"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و پنجم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲

مقاله مروری

نقش مطالعات ژنومیکس کارکردی در شناسایی پاسخ‌های مولکولی گیاهان زراعی به تنش‌های غیرزیستی

The role of functional genomics studies in identifying the molecular responses of crop plants to abiotic stresses

رضا درویش زاده[1] و حامد بروشان[2]

چکیده

درویش‌زاده، ر. و ح. بروشان. ۱۴۰۲. نقش مطالعات ژنومیکس کارکردی در شناسایی پاسخ‌های مولکولی گیاهان زراعی به تنش‌های غیرزیستی. **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۵ (۳): ۲۳۲ -۲۰۷.**

گیاهان در طول دوره رشد در معرض عوامل تنش‌زای غیرزیستی متعددی قرار می‌گیرند. با توجه به نقش محوری گیاهان زراعی در تولید غذا، علوفه، روغن و سوخت‌های زیستی، ارزیابی پاسخ‌های آنها به تنش‌های محیطی حائز اهمیت زیادی است. گیاهان در طول تکامل دارای سامانه‌های مولکولی پیچیده‌ای برای پاسخ و سازگاری با شرایط تنش‌زای محیطی از جمله خشکی، شوری، سرما و گرما شده‌اند. پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گونه‌ها و حتی در ارقام مختلف یک گونه به مقدار قابل توجهی متفاوت است. شناسایی پاسخ‌های گیاه به تنش‌های غیرزیستی، باعث تحول زیادی در دوران پساژنوم شده است. تجزیه‌های فیزیولوژیکی و مولکولی به شناسایی بهتر پاسخ‌های گیاهی کمک کرده و در این رابطه توالی‌یابی ژنوم گیاه آرابیدوبسیس نقش مهمی داشته است. فنوتایپینگ کمی گیاهان با استفاده از فناوری تصویربرداری و ترکیب آن با فناوری اطلاعات، درک پاسخ‌های پیچیده گیاهان را تسهیل کرده است. مطالعه سازوکارهای تنظیمی جدید از جمله استفاده از مولکول‌های RNA کوچک، مدولاسیون کروماتین و اصلاح DNA ژنومی، محققان را قادر به تشخیص سامانه‌های مولکولی پیچیده‌گیاهی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نموده است. محققان دریافته‌اند که گیاهان دارای انواع حسگرها و سامانه‌های پیام‌رسانی برای پاسخ به تغییرات و تنش‌های محیطی هستند. الگوهای مولکولی این پیام‌ها، برای القای صحیح رویدادهای مولکولی پایین‌دست انتقال می‌یابند. دریافت اطلاعات مورد نیاز در ارتباط با عملکرد DNA در سطوح ژنی، رونویسی RNA و فراورده‌های پروتئینی، نیازمند بهره‌برداری از روش‌های متنوع ژنومیکس کارکردی مانند توالی‌یابی نسل بعد و ویرایش ژنومی با تعداد داده بالا می‌باشد. این داده‌ها که همان اطلاعات ضروری برای کلیه ژن‌ها از جمله فراورده‌های ژنی و عملکرد آن‌ها، سطوح رونویسی، سیس‌المنت‌های تنظیمی و الگوهای پیرایش متناوب هستند، در اثر دسترسی به توالی کامل ژنوم حاصل می‌شوند. با پیشرفت در روش‌های ژنومیکس کارکردی، می‌توان بسیاری از ژن‌های مرتبط با تحمل تنش را شناسایی کرده و از آنها برای بهبود تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی استفاده کرد. در این مقاله، مطالعات مرتبط با ژنومیکس کارکردی برای شناسایی سامانه‌های پیچیده پاسخ در گیاهان که باعث سازگاری به تنش‌های غیرزیستی می‌شوند، مرور شده است.

واژه‌های کلیدی: آرابیدوبسیس، انتقال پیام، پاسخ هورمونی، تنش‌های غیرزیستی و تنظیم رونویسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵

۱- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

The role of functional genomics studies in identifying the molecular responses of crop plants to abiotic stresses

Darvishzadeh, R.[1] and H. Broushan[2]

ABSTRACT

Darvishzadeh, R. and H. Broushan. 2023. The role of functional genomics studies in identifying the molecular responses of crop plants to abiotic stresses**. Iranian Journal of Crop Sciences. 25(3): 207-232. (In Persian).**

Plants are exposed to various environmental stresses during their life cycle. Considering the essential role of crop plants in the production of food, fodder, oil and biofuels, it is important to evaluate their responses to environmental stresses. Plants have developed complex molecular systems to respond and adapt to environmental stress conditions such as drought, salinity, cold and heat during evolutionary processes. The response to abiotic stress is significantly different in species and even in different cultivars of the same species. Identification of plant responses to abiotic stresses has caused a great revolution in post-genome era. Physiological and molecular analyses have helped to better identify plant responses, and in this regard, *Arabidopsis* genome sequencing has played an important role. Quantitative phenotyping system of plants using imaging technology and its combination with information technology has facilitated the understanding of complex responses of plants to abiotic stresses. Studies on new regulatory mechanisms including use of small RNA molecules, chromatin modulation and genomic DNA modification, have enabled researchers to recognize complex plant molecular systems in response to abiotic stresses. Researchers have found that plants have types of sensors and signaling systems to respond to environmental changes and stresses. The molecular patterns of these signals are transmitted for the proper induction of the downstream molecular events. Obtaining necessary information related to DNA function at gene levels, RNA transcription and protein products, requires the use of various functional genomics methods such as next generation sequencing and genome editing, with large amounts of data. These data, which are essential information for all genes, including gene products and their functions, transcription levels, cis-regulatory elements and alternative splicing patterns, are obtained as a result of accessing the complete genome sequence. With progress in functional genomics methods, many genes related to stress tolerance can be identified and used to improve the level of tolerance of crops to environmental stresses. In this article, studies related to functional genomics for identification of complex response systems in crop plants that cause adaptation to abiotic stresses have been reviewed.

Key words: Abiotic stresses, *Arabidopsis,* Hormone response, Signal transduction and Transcriptional regulation

Received: June, 2023 Accepted: December, 2023

1. Professor, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding author) (Email: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
2. Former MSc Student, Urmia University, Urmia, Iran

مقدمه

تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری، سرما و گرما از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در گیاهان محسوب می‌شوند (Qin *et al*., 2011). بنابراین شناسایی سازوکارهای پاسخ به تنش‌های غیرزیستی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین موضوعات در علوم گیاهی مورد توجه است. پیشرفت‌های حاصل شده در این زمینه، عمدتا به‌دلیل استفاده از علوم زیست‌شناسی مولکولی بوده است. با استفاده از این روش، بسیاری از ژن‌هایی که بر اثر تنش‌های غیرزیستی القا می‌شوند، جداسازی و کارکردهای آن‌ها در گیاهان تراریخت مشخص شده است. دسترسی به این اطلاعات، دیدگاه محققان را در ارتباط با پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی و تحمل تنش، روشن‌تر کرده است (Hirayama and Shinozaki, 2010). از زمان تکمیل توالی‌یابی ژنوم گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) در سال ۲۰۰۰، نظارت بر پروفایل‌های بیانی کلیه ژن‌ها در یک زمان، با استفاده از مطالعات ریزآرایه (Microarray)، امکان‌پذیر شده است. علاوه بر این، دسترسی به آرایه‌های مرتب (Tiling arrays) کل ژنوم که مبتنی بر داده‌های کامل توالی ژنوم هستند، امکان دسترسی به هر واحد رونویسی شده، الگوهای متنوع پیرایش متناوب (Alternative splicing) یا اصلاح کروموزوم/کروماتین با استفاده از تکنولوژی رسوب‌گذاری ایمنی کروماتین (Chromatin Immunoprecipitation) را فراهم کرده است (Qin *et al*., 2011). در حال حاضر با در دسترس بودن داده‌های ژنوم، شناسایی سیس المنت‌ها و ترانس المنت‌های تنظیمی (Cis-regulatory elements vs Trans-regulatory elements) غیرممکن نیست. جمع‌آوری داده‌های کامل از ژن‌ها، علاوه بر فراهم شدن امکان بررسی کلیه مسیرهای متابولیکی، راهبرد مناسبی جهت شناسایی پلی‌پپتیدها در تجزیه پروتئین مبتنی بر طیف‌سنجی جرمی (Mass spectrometry) بوده است. در حال حاضر ترکیب این داده‌های اومیکس جهت شناسایی فرآیندهای سلولی کل گیاه ضروری به نظر می‌رسد (Hirayama and Shinozaki, 2010). اطلاعات ژنوم برای تعیین مکان بسیاری از ژن‌های غیرفعال شده در اثر جهش، که با استفاده از جهش درجای T-DNA از طریق انتقال آگروباکتریوم یا حرکت ترانسپوزون‌ها تولید شده‌اند، قابل استفاده است (Kuromori *et al*., 2022). ژنوتیپ‌های جهش‌یافته‌های بدست‌آمده در تجزیه کارکردی کلیه ژن‌های آرابیدوبسیس مورد استفاده قرار گرفته و به‌دنبال آن، تحقیقات بیشتر در ارتباط با پاسخ‌های گیاه به تنش‌های غیرزیستی و سایر زمینه‌ها امکان‌پذیر شده است (Hirayama and Shinozaki, 2010). با توجه به محدودیت‌های روش‌های به‌نژادی متداول، ظهور روش‌های با توان عملیاتی بالا، باعث بهره‌برداری سریع‌تر و دقیق‌تر از ژنوم گیاهان در بهبود عملکرد گیاهان زراعی شده است. هدف از رویکردهای مبتنی بر ژنومیکس، کشف رمز کل ژنوم از جمله مناطق ژنی و بین ژنی و به دنبال آن شناسایی پاسخ‌های مولکولی گیاه است (Qin *et al*., 2011). تحقیقات ژنومی اغلب به کمک مطالعات کارکردی تکمیل شده و اطلاعات مفیدی جهت بهبود عملکرد به محققان ارائه می‌دهند. روش‌های ژنومیکس کارکردی (Functional genomics) اغلب به‌منظور کشف کارکردهای ژن و تعامل بین ژن‌ها در شبکه‌های تنظیمی استفاده می‌شوند و می‌توان از آنها برای تولید ارقام اصلاح شده استفاده کرد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022).

در این مقاله، پیشرفت‌های اخیر در مطالعات ژنومیکس کارکردی برای شناسایی پاسخ‌های پیچیده گیاهی به تنش‌های غیرزیستی و سامانه‌های تنظیمی جهت تحمل به تنش‌ها که با توجه به توالی ژنوم آرابیدوبسیس به‌دست آمده، ارائه شده و در ادامه

چشم‌اندازهای جدید در ارتباط با رهیافت‌های تحقیقاتی آینده ارائه شده است.

مروری بر نقش ژنومیکس کارکردی در شناسایی پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

به‌دنبال ابداع روش‌های زیست‌شناسی مولکولی، تحقیقات زیادی برای شناسایی ژن‌های القا شده بر اثر تنش با استفاده از روش‌های غربالگری افتراقی در گونه‌های مختلف گیاهی مانند آرابیدوپسیس انجام شده است (Hirayama and Shinozaki, 2010). بیش‌بیان برخی از این ژن‌ها، باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی (خشکی و شوری) می‌شود. با استفاده از بیان این ژن‌ها می‌توان طرح کلی از تنظیم رونویسی را ارائه نمود (Hirayama and Shinozaki, 2010). علاوه بر این، مراحل القایی متفاوتِ ژن‌ها در شرایط تنش، به‌دلیل وابسته بودن آنها به سنتز نوپدید پروتئین‌ها یا مولکول‌های پیام‌رسان مثل آبسیزیک اسید (ABA) است (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). این موضوع نشان می‌دهد که هر مرحله القایی ممکن است توسط یک سازوکار پیام‌رسانی متفاوت کنترل شود. با استفاده از تکنولوژی ریزآرایه، ژن‌های پاسخ دهنده به تنش‌های غیرزیستی به‌صورت جامع‌تری شناسایی شده‌اند. ژن‌های شناسایی‌شده در این آزمایش‌ها را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل ژن‌های پروتئین‌های فراوان در مرحله انتهایی جنین‌زایی (Late Eembryogenesis Abundant; LEA)، اسموتین‌ها، پروتئین‌های ضدانجماد، آنزیم‌های کلیدی بیوسنتز اسمولیت‌ها مانند پرولین و رافینوز، آکواپورین‌ها، ناقل‌های پرولین و قند، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های دخیل در متابولیسم اسیدهای چرب و مهارکننده‌های پروتئینازها هستند که در تحمل به تنش نقش مستقیم دارند (Hasaneh *et al.*, 2021; Banifatemeh *et al.*, 2021; Darvishzadeh and Pirzad, 2020; Morsali Aghajari *et al.*, 2020; Habibi *et al.*, 2020; Ebrahimipour *et al.*, 2020; Moradbeygi *et al.*, 2020). گروه دوم شامل تنظیم‌کننده‌های پیام‌رسان‌های درون‌سلولی و بیان ژن‌های القا شده در اثر تنش از جمله پروتئین کینازها، فسفاتازها، آنزیم‌های متابولیک فسفولیپیدی و انواع مختلف عوامل رونویسی هستند (Hoseinpour *et al.*, 2019; Akbari *et al.*, 2021). شناسایی وارسان‌های پیام القا شده در اثر تنش، باعث تقویت این نظریه شده است که در گیاهان سازوکارهای سلولی انعطاف‌پذیری جهت پاسخ به تنش‌های غیرزیستی توسعه یافته است (Hirayama and Shinozaki, 2010).

فرآیندهای تنظیم رونویسی در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

در سال‌های اخیر الگوهای بیانِ ژن‌های القا شده در اثر تنش‌های غیرزیستی با استفاده از فناوری ریزآرایه، توالی‌یابی RNA و PCR کمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند (Shahabzadeh *et al.*, 2020; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022; Sharifi Alishah *et al.*, 2022a, b; Mohasseli *et al.*, 2022a, b). براساس نتایج این مطالعات ثابت شده است که هزاران ژن گیاهی توسط تنش‌های غیرزیستی قابل القا هستند. نتایج تحقیقات تغییرات گسترده‌ای را در زمان‌بندی القای این ژن‌ها نشان داده است (Kuromori *et al*., 2022).

نقش آبسیزیک اسید (ABA) نیز در تنظیم و بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش اثبات شده است. بررسی عملکرد برخی از این ژن‌ها که کد کننده عوامل مخنلف رونویسی دخیل در ترارسانی پیام ABA هستند از طریق ارزیابی لاین‌های جهش یافته گیاهی انجام شده است. در یکی از این تحقیقات، گیاهان جهش‌یافته‌ای که تیمار ABA روی آنها اعمال نشده بود، برای تجزیه ژن‌های القا شده در شرایط تنش خشکی که به تیمار ABA پاسخ‌گو بودند، مورد استفاده قرار گرفت. با این حال، اعمال سرما و یا خشکی باعث القای برخی از ژن‌ها در گیاهان جهش یافته فاقد آبسیزیک اسید

(ABA-deficient) یا غیرحساس به آبسیزیک اسید (ABA-insensitive) شد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). این موضوع نشان می‌دهد که علاوه بر سامانه‌های وابسته به آبسیزیک اسید، سامانه‌های غیروابسته به آبسیزیک اسید نیز در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش دارند.

رونویسی مستقل از آبسیزیک اسید در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

خانواده عامل متصل به CRT/ پروتئین متصل به DRE1 (DREB1/CBF) حاوی عوامل رونویسی نوع آپتالا۲ (AP2) هستند که به عناصر عملگر سیس (DRE/CRT) در راه‌انداز (پروموتر) ژن‌های هدف متصل بوده و در بیان ژن‌های دخیل در پاسخ به سرما نقش دارند (Hirayama and Shinozaki, 2010). تجزیه راه‌انداز ژن *RD29A* نشان داد که عنصر پاسخ دهنده به خشکی (DRE) که یک توالی حفاظت‌شده نه جفت بازی (TACCGACAT) است، در تنظیم القای این ژن در پاسخ مستقل از آبسیزیک اسید به خشکی و سرما مؤثر است (Hirayama and Shinozaki, 2010). با این حال، ژن *RD29A* در گیاهان جهش یافته غیرحساس یا فاقد آبسیزیک اسید توسط هر دو نوع تنش خشکی و سرما القا شد. این موضوع نشان می‌دهد که این ژن توسط هر دو تنظیم وابسته و مستقل از آبسیزیک اسید در شرایط تنش کنترل می‌شود (Hirayama and Shinozaki, 2010). با استفاده از غربالگری تک‌هیبریدی، DNAهای مکمل (cDNAs) رمزکننده پروتئین‌های متصل به DRE/CRT، DREB1/CBF و DREB2/CBF جداسازی شدند (Wu *et al*., 2020). این پروتئین‌ها حاوی ناحیه (دومین) متصل به DNA حفاظت‌شده هستند که در پروتئین‌های عامل متصل به عنصر پاسخگو به اتیلن (ERF) و آپتالا۲ یافت شدند و به طور خاص به توالی DRE/CRT متصل شده و رونویسی ژن‌های هدایت‌شده توسط این توالی را فعال می‌کنند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). در گیاه آرابیدوبسیس بر خلاف تنش سرما، تنش‌های خشکی یا شوری شدید باعث القای بیان ژن‌های رمزکننده DREB1/CBF (*DREB1B/CBF*, *DREB1A/CBF3*, *DREB1C/CBF2*) نمی‌شود. ژنوتیپ‌های جهش یافته آرابیدوبسیس که در آنها عملکرد سه ژن *DREB1* دچار اختلال شده‌اند، باعث کاهش تحمل به انجماد در گیاه می‌شود (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). بیان ژن‌های *DREB1A/CBF3* یا *DREB1C/CBF2* در سطح رونویسی به‌ترتیب توسط القاکننده بیان CBF1 (ICE1) یا فعال‌کننده رونویسی متصل‌شونده به کالمودیولین (CAMTA) تنظیم می‌شود. پروتئین‌های CAMTA دارای یک ناحیه اتصال به کالمودیولین هستند. ICE1 نیز یک عامل رونویسی از نوع MYC است که به عنوان تنظیم‌کننده تشکیل منافذ روزنه‌ای شناخته می‌شود (Doherty *et al*., 2009). نتایج تحقیقات میورا و همکاران (Miura *et al*., 2007) نشان داد که یک پپتید تغییردهنده شبه یوبی‌کوئیتین به نام SIZ1 از طریق اسمویله کردن ICE1 فعال‌سازی *DREB1A/CBF3* را تحریک می‌کند. لازم به ذکر است که سومولاسیون (Sumoylation) در تنظیم عوامل رونویسی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی دخالت دارد (Hirayama and Shinozaki, 2010). جهش در ژن *ICE1* آرابیدوبسیس، باعث خاموشی بیان ژن *CBF3* و کاهش بیان تعدادی از ژن‌های پایین‌دست *CBF3* و در نتیجه کاهش معنی‌دار تحمل گیاه به تنش سرما و انجماد شد (Thomashow and Torii, 2020). سه نوع پروتئین DREB1 (پروتئین متصل به عنصر پاسخ دهنده به کم‌آبی)، عوامل اصلی رونویسی هستند که در بیان ژن‌های سرما-القا نقش ایفا می‌کنند (Wu *et al*., 2020). علاوه بر این دو پروتئین DREB2 به نام‌های DREB2A و DREB2B نیز وجود دارند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). با این وجود، بر خلاف تنش‌های خشکی و شوری شدید، بیان ژن‌های

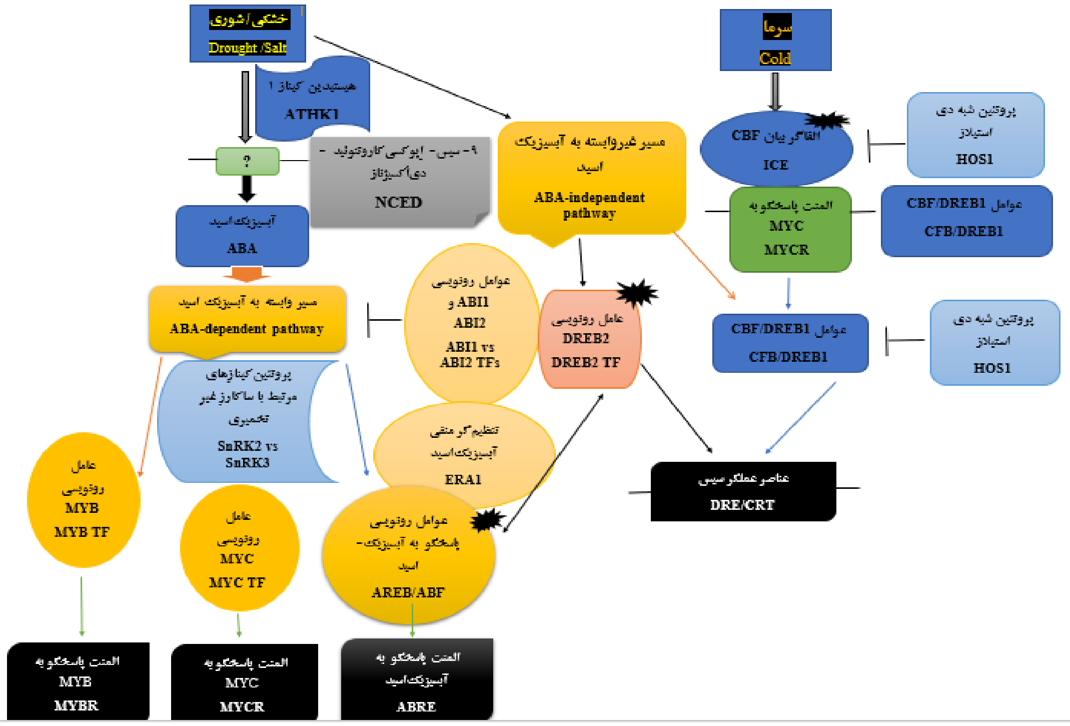
رمزکننده DREB2 در اثر تنش سرما القا نمی‌شود (Thomashow and Torii, 2020). در پاسخ به تنش گرما، بیان تعدادی از ژن‌های عوامل رونویسی شوک حرارتی (HSF) و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) به عنوان چاپرون‌های مولکولی القا می‌شوند. عوامل شوک حرارتی در القای HSPهای پاسخ دهنده به تنش گرمایی در گیاهان نقش دارند. در بین گروه A عوامل شوک حرارتی، HSFA1 به عنوان ناحیه فعال‌کننده اصلی رونویسی، بیان سریع سایر عوامل رونویسی پاسخ دهنده به تنش گرما از جمله HSFB، HSFA7، HSFA2، DREB2A و MBF1C را تحریک می‌کند. در گروه B عوامل شوک حرارتی، HSFBها سرکوب‌گر رونویسی بوده و به‌صورت منفی بیان بسیاری از HSFهای قابل القای گرمایی (HSFA2 و HSFA7) و HSPهایی مانند HSP70 و HSP101 را تنظیم می‌کنند (Kalaipandian *et al*., 2023). علاوه بر این، HSFBها ژن‌های هدف HSFA1ها در پایین دست بوده و با تعامل با یکدیگر، یک شبکه تنظیمی مسئول بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش گرما را تشکیل می‌دهند. در آزمایش سوزوکی و همکاران (Suzuki *et al*., 2011)، در ژنوتیپ جهش یافته *mbf1c*، باعث افزایش میزان بیان *DREB2A* و HSFBها در طول تنش گرما شد. گزارش شده است که در گیاه گندم، بیش‌بیان TaHSFC2a-B باعث فراتنظیمی HSPها و سایر ژن‌های حفاظتی گرمایی و در نتیجه بهبود تحمل گیاه به گرما شد (Kalaipandian *et al*., 2023). بیش‌بیان انواع فعال *DREB2A* (DREB2A CA) در گیاهان تراریخته که فاقد عامل تنظیمی منفی (NRD) در بخش مرکزی *DREB2A* هستند، نشان‌دهنده افزایش ژن القایی تنش و بیان ژن‌های تحمل به تنش خشکی است (Thomashow and Torii, 2020). *DREB2A* با سازوکارهای تنظیمی مختلف ناحیه تنظیمی منفی، باعث پیام‌رسانی خشکی و گرما می‌شود (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022).

پروتئین‌های حاوی ناحیه MATH و BTB/POZ، آداپتور بستر کولین ۳ را رمز کرده و به ناحیه تنظیمی منفی ژن *DREB2A* اتصال می‌یابند (Thomashow and Torii, 2020). علاوه بر این، کازئین‌کیناز ۱ (CK1) با مهار فسفریلاسیون این ناحیه تنظیمی باعث فعال‌سازی *DREB2A* در پاسخ به تنش گرمایی می‌شود (Kalaipandian *et al*., 2023). نتایج تحقیقات یاد شده اثبات کننده تداخل یا تلاقی (Crosstalk) کارکرد *DREB2A* بین تنش‌های خشکی و گرما است.

رونویسی وابسته به اسید آبسیزیک در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

آبسیزیک اسید نقش مهمی در انتقال پیام تنش خشکی و اسمزی در گیاهان ایفا می‌کند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). تنش اسمزی با افزایش سطح آبسیزیک اسید باعث فعال‌سازی مجموعه‌ای از ژن‌ها می‌شود. عوامل رونویسی پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید (AREB/ABF) به همراه یک ناحیه متصل به DNA از نوع زیپ لوسینی بازی (bZIP)، به عنصر پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید (ABRE:ACGTGG/TC) متصل شده و نقش محوری در فعال‌سازی ژن وابسته به آبسیزیک اسید ایفا می‌کنند (Uno *et al*., 2000; Gholinezhad *et al*., 2022). عنصر پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید به عنوان عنصر عملگر سیس، تنظیم بیان ژن پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید را بر عهده دارد (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). در گیاه آرابیدوبسیس، دو عنصر سیس پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید برای تنظیم بیان ژن *RD29E* که یک پروتئین فراوان در مرحله انتهایی جنین‌زایی را رمز می‌کنند، گزارش شده است (Nakashima and Suenaga, 2017). در گیاهان همانند سایر موجودات زنده، عوامل رونویسی در اثر تغییر پس از ترجمه‌ای از نوع فسفریلاسیون تنظیم می‌شوند؛ به طوری که عوامل رونویسی پاسخ دهنده به آبسیزیک

اسـیـد (AREB/ABF) و ABI5 در آرابیدوبسـیس و TRAB1 در برنج در اثر فسفریلاسیون دنباله‌های متعدد سرین/ترئونین (Ser/Thr) تنظیم مـی‌شـوند (Hirayama and Shinozaki, 2010). پروتئین کیناز نـوع دو مـرتبط بـا سـاکارز غیرتخمیـری (SnRK2) و پـروتئین کینـازهـای وابسته بـه یـون کلسـیم (CDPK) بـه عنـوان کاندیـدهای فعال‌کننده عوامل رونویسی پاسخ دهنـده بـه آبسـیزیک اسـید (AREB1/ABF2 & AREB2/ABF4) گـزارش شده‌اند (Zhu *et al.*, 2007; Gholinezhad *et al.*, 2022). به‌نظر می‌رسد که این عوامل رونویسی، به عنـوان مؤلفه اصلی در ادغام پیـام‌هـای ورودی ناشـی از تـنش‌هـای محیطی نقش ایفا می کنند (شکل ۱).



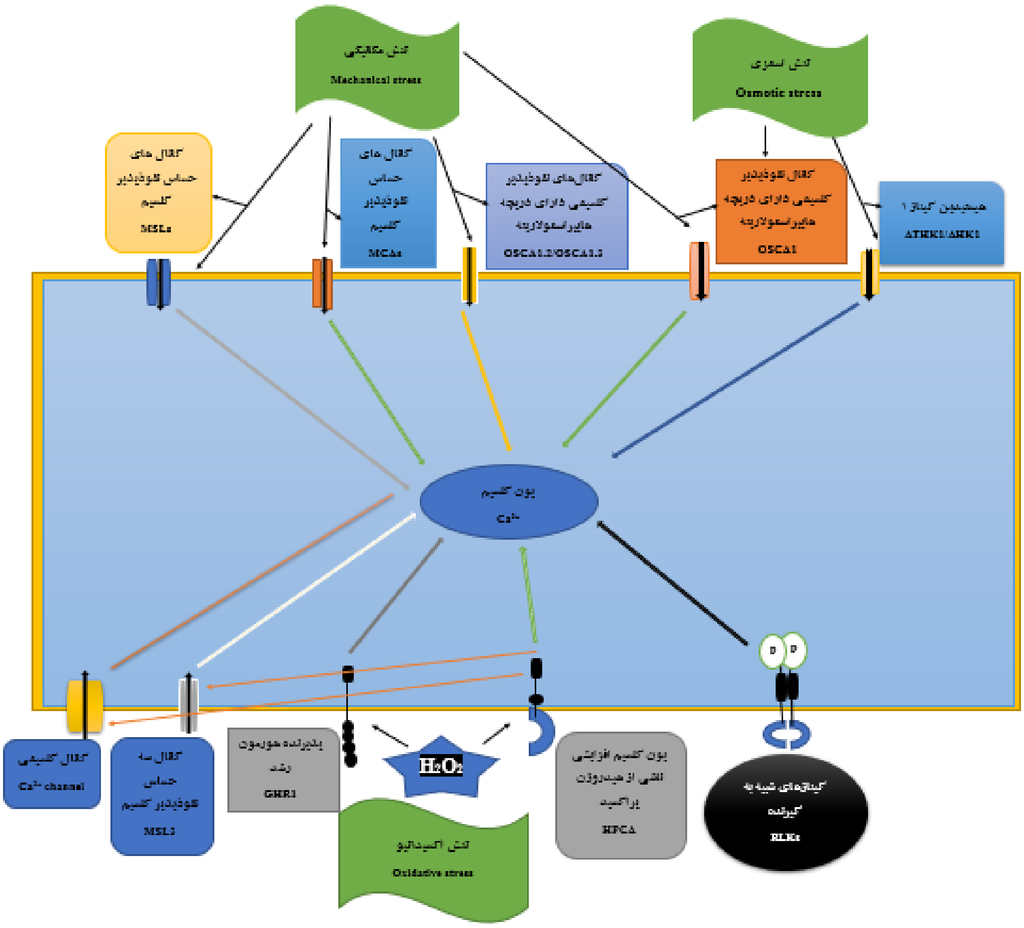
شکل ۱- عملکرد شبکه تنظیم کننده رونویسی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های خشکی، شوری و سرما

Fig. 1. Transcriptional regulatory network functioning in plants in response to drought, salinity and cold stress (Hirayama and Shinozaki, 2010)

مسیرهای انتقال پیام در پاسخ گیاهـان بـه تـنش‌هـای غیرزیستی

در گیاهان انـواع مختلـف حسـگرهـای مولکـولی از جملـه حسـگرهـای اسـمزی، حسـگرهـای مکـانیکی، کانال‌هـای کلسـیمی و حسـگرهـای گونـه‌هـای فعـال اکسیژن برای پاسخ مناسب به انواع تنش‌های غیرزیستی، بویژه تنش خشکی شناسایی شده‌اند (شکل ۲). به‌عـلاوه در پایین‌دست حسگرهای اسمزی، مسیرهای پیام‌رسـانی زیادی وجود دارند که تنظیم بیان ژن‌ها را با کمک یون کلسیم و آبسیزیک اسید انجام مـی‌دهنـد. ایـن موضـوع باعـث سـنتز اسـمولیت‌هـا و تنظـیم اسـمزی مـی‌شـود (Deinlein *et al.*, 2014). برخی از حسگرهای اسمزی و مسیرهای پیام‌رسانی احتمالی به‌عنوان کاندیدهای پاسخ دهنده به تنش معرفی شده‌انـد. نتـایج تحقیقـات ژنتیـک معکـوس نشـان داده اسـت کـه هیسـتیدین کینـاز ۱ (AHK1/ATHK1) یـک هیسـتیدین کینـاز غشـایی در گیاه آرابیدوبسیس اسـت کـه مـی‌توانـد بـه عنـوان یـک حسـگر اسـمزی در سـلول‌هـای مخمـر و احتمـالاً در

سلول‌های گیاهی عمل کند. در گیاه آرابیدوبسیس، هیستیدین‌کیناز۱ به‌عنوان یک هومولوگ کارکردی در مخمر، کدکننده Sln1p که یک حسگر اسمزی هیستیدین‌کیناز است، معرفی شده است. ارزیابی ژنوتیپ‌های جهش یافته *ahk1* و بیش‌بیان آن نشان داد که این ژن به عنوان تنظیم‌کننده مثبت تحمل به تنش خشکی عمل می‌کند. به‌نظر می‌رسد که پروتئین‌های شبه تنظیم کننده پاسخ (Response regulator-like protein) به‌عنوان سازوکارهای پیام‌رسان پایین‌دست در فرآیندهای علامت‌دهی شرکت می‌کنند (Wohlbach *et al.*, 2008). ژن‌های گیاهی مسیر آبشارهای مپ‌کینازی (MAP kinase cascades) نیز که احتمالاً به عنوان اجزای اصلی پیام‌رسان سلولی در پایین‌دست حسگرهای اسمزی عمل می‌کنند، از نظر پاسخ به تنش‌های محیطی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (Hirayama and Shinozaki, 2010). نتایج مطالعات بیوشیمیایی و ژنتیکی در گیاه آرابیدوبسیس، وجود آبشارهای مپ‌کینازی از جمله آبشار MEKK1-MKK2-MPK4/6 را که در انتقال پیام‌های تنش شوری و سرما نقش دارند، آشکار ساخته است (Deinlein *et al.*, 2014). یون کلسیم یکی از مهم‌ترین پیام‌رسان‌های ثانویه در پاسخ به محرک‌های خارج سلولی در گیاهان است. این یون، با فعال‌سازی مسیر تنظیمی SOS (بیش از حد حساس به شوری)، حذف یون سدیم را از طریق آنتی‌پورتر SOS1 و نیز ذخیره آن در واکوئل از طریق آنتی‌پورتر NHX1 تنظیم می‌کند (Hoseinpour *et al.*, 2021). دو پروتئین‌کیناز به‌عنوان اهداف پیام‌رسانی یون کلسیم در گیاهان در نظر گرفته شده‌اند. یکی از آنها، پروتئین‌کیناز ۳ مرتبط با ساکارز غیرتخمیری ۱ (SnRK3) است که فعالیت آن وابسته به پروتئین‌های شبه کلسی‌نورین B (Calcineurin B-like protein) متصل به یون کلسیم است. پروتئین‌کیناز دیگر، پروتئین‌کیناز وابسته به کلسیم است (Wohlbach *et al.*, 2008). نتایج تحقیقات نشان داده است که در گیاه آرابیدوبسیس پروتئین‌کینازهای ۴ و ۱۱، عوامل رونویسی پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید را به صورت وابسته به این هورمون فسفریله می‌کنند (Zhu *et al.*, 2007; Gholinezhad *et al.*, 2022). به‌نظر می‌رسد که کانال‌های کلسیمی فعال‌شده توسط کشش (Stretch-activated calcium channels)، به عنوان کاندیدای حسگر اسمزی در دریافت تنش خشکی عمل می‌کنند. کانال‌های حساس مکانیکی نفوذپذیر کلسیم ۱ و ۲ (MCA 1 and 2)، تغییرات اسمزی را در غشای پلاسمایی حس می‌کنند تا باعث ورود یون کلسیم برای فعال‌سازی پیام‌رسانی سلولی پایین‌دست شوند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). این کانال‌ها و سایر حسگرهای اسمزی، مسئول پاسخ‌های پیچیده گیاه به تنش خشکی هستند. کاهش هیپراسمولاریتی ناشی از افزایش یون کلسیم ۱ (OSCA1) نیز به‌عنوان کانال پروتئینی دیگر، ورود یون کلسیم را در پاسخ به تنش اسمزی تنظیم می‌کند (Murthy *et al.*, 2018). نقش این کانال تنها با ورود یون کلسیم ناشی از تنش اسمزی در سلول‌های روزنه ظاهر می‌شود. پروتئین غشایی خانواده OSCA (CSC1/OSCA1.2) می‌تواند باعث ورود یون کلسیم در پاسخ به تنش خشکی شود. این پروتئین، یک کیناز شبه گیرنده تکراری غنی از لوسین (Leucine-rich repeat receptor-like kinase) است که توسط پراکسید هیدروژن در ناحیه خارج سلولی فعال شده و باعث ورود یون کلسیم به سلول‌های محافظ و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (Wu *et al.*, 2020). فعالیت پیام‌رسانی گونه‌های فعال اکسیژن نیز توسط هومولوگ D اکسیداز انفجار تنفسی نوری (RBOHD) القا شده و باعث بسته شدن روزنه‌ها در برگ‌های تحت تنش می‌شود. تصور می‌شود که پیام‌رسانی گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش خشکی صورت می‌گیرد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022).



شکل ۲- سازوکار درک و انتقال پیام سلولی گیاهان در پاسخ به تنش خشکی

Fig. 2. Sensing system and cellular signal transduction of plants in response to drought stress (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022)

پاسخ‌های هورمونی گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

در شرایط تنش شوری یا خشکی، تجمع آبسیزیک اسید در اثر تغییر در بیان ژن‌ها و فرآیندهای سلولی، نقش اساسی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان ایفا می کند (شکل ۳). شناسایی آنزیم‌های محدودکننده سرعت (Rate-limiting enzyme) مانند ۹- سیس- اپوکسی‌کاروتنوئید دی‌اکسیژناز (NCED) در مسیر بیوسنتزی آبسیزیک اسید و سیتوکروم P450 (Cytochrome P450 CYP707A) در مسیر کاتابولیکی آبسیزیک اسید، نحوه کنترل میزان این فیتوهورمون را روشن ساخته است (Hirayama and Shinozaki, 2010).

۹- سیس- اپوکسی‌کاروتنوئید دی‌اکسیژناز در اثر خشکی القا شده و با بازجذب آب کاهش می‌یابد، در حالی که سیتوکروم P450 در طی بازجذب آب دچار فراتنظیمی می‌شود. این موضوع نشان دهنده تنظیم دقیق سطح آبسیزیک اسید در سامانه‌های هماهنگ بیوسنتز و تجزیه این هورمون است (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). گزارش شده است که گیرنده‌های آبسیزیک اسید از نوع استارت یا از نوع PYR/PYL/RCAR (پروتئین مقاوم به پیرابکتین / پروتئین شبه مقاوم به پیرابکتین/ جزء تنظیمی گیرنده آبسیزیک اسید) هستند که روی غشای پلاسمایی قرار

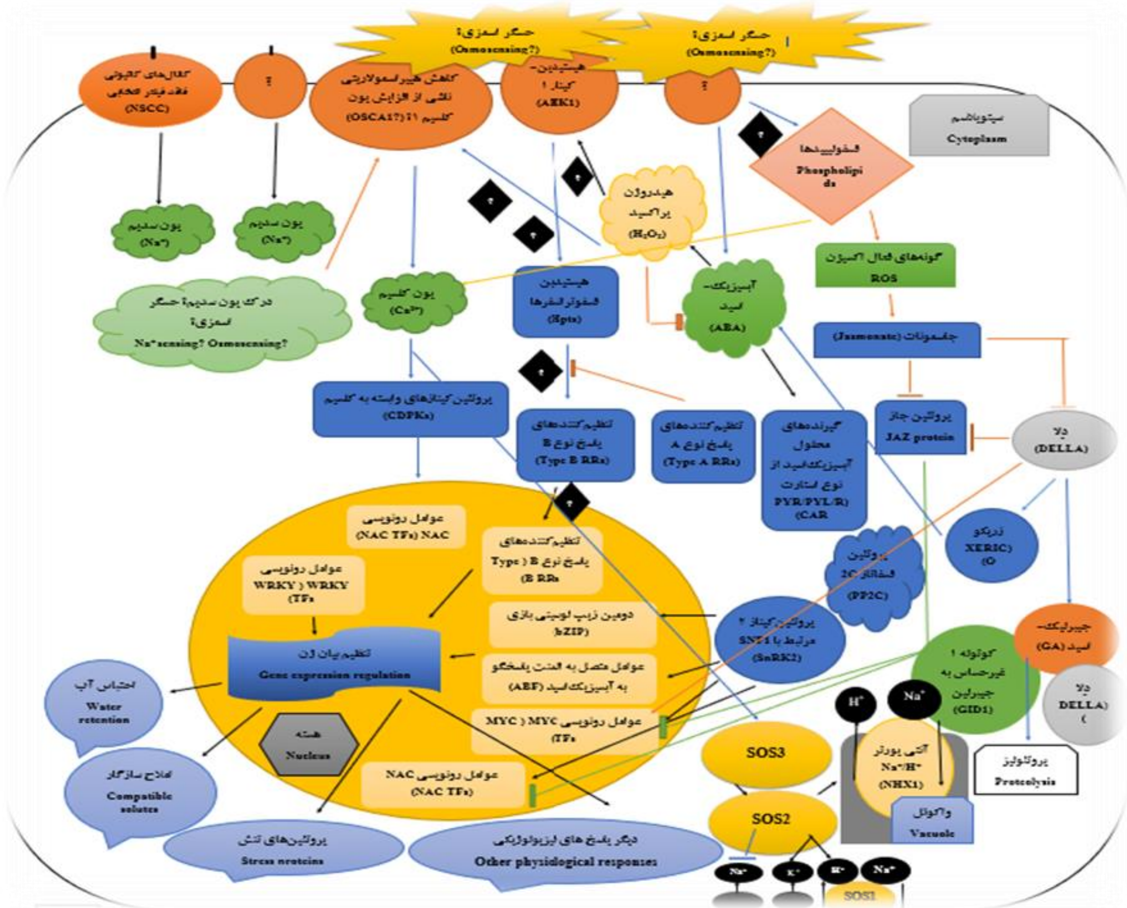
دارند. نتایج تجزیه‌های ژنتیکی و بیوشیمیایی نشان داده است که این پروتئین‌ها در حضور آبسیزیک اسید مستقیماً به پروتئین فسفاتاز 2C متصل بوده و فعالیت آنها را به صورت وابسته به آبسیزیک اسید مهار می‌کنند. این نتایج نشان می‌دهد که آبسیزیک اسید فرآیندهای سلولی را با تعدیل فعالیت پروتئین‌فسفاتاز 2C تنظیم می‌کند و این موضوع نشان دهنده وجود یک سامانه منحصربه‌فرد در مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی است (Ma *et al*., 2009). همچنین گزارش شده است که کلاد A پروتئین فسفاتاز 2C (Clade A PP2C) در تعامل با SnRK2های فعال شده توسط آبسیزیک اسید، آن‌ها را از طریق دفسفریلاسیون باقیمانده‌های آمینواسید اختصاصی خود غیرفعال می‌نمایند (شکل ۴). ژن‌های خانواده SnRK2 دارای ۱۰ عنصر هستند و به سه زیرکلاس تقسیم می‌شوند. از بین آنها، سه ژن از زیرکلاس III ژن‌های خانواده SnRK2، نقش‌های مهمی در انتقال پیام ایفا می‌کنند، زیرا ژنوتیپ‌های جهش یافته سه بار حذف شده (ناک‌اوت) آنها، دارای فنوتیپ غیرحساس به آبسیزیک اسید بودند. زیرکلاس SnRK2 IIIها توسط پروتئین کیناز کیناز کیناز فعال‌شده با میتوژن (MAPKKK) یا کیناز شبه‌رف نوع B‏(B-type Raf-like kinase) در نوعی خزه (*Physcomitrella patens*) فعال شدند (Fujita *et al*., 2018). در گیاه آرابیدوبسیس نیز، پروتئین کینازهای شبه‌رف نوع B در فسفریلاسیون و فعال‌سازی زیرکلاس III ژن‌های خانواده SnRK2 نقش ایفا می‌کنند (Soma *et al*., 2021). کینازهای B2-Raf و B3-Raf به‌عنوان پروتئین‌کینازهای اختصاصی سرین/ترئونین نیز در اثر تنش اسمزی به شیوه‌ای مستقل از آبسیزیک اسید فعال می‌شوند. این یافته‌ها نشان دهنده تداخل فعالیت SnRK2 بین مسیرهای مستقل و وابسته به آبسیزیک اسید می‌باشد (Soma *et al*., 2021; Takahashi *et al*., 2020a). در مقابل، زیرکلاس I ژن‌های خانواده SnRK2ها در اثر دهیدراتاسیون در یک مسیر مستقل از آبسیزیک اسید فعال می‌شوند که نتیجه آن تنظیم واپاشی mRNA توسط آنزیم جداساز mRNA یا واریکوس (VARICOS) فسفریله شده توسط این زیرکلاس است. فسفریلاسیون کینازهای B4-Raf توسط زیرکلاس I ژن‌های خانواده SnRK2 نیز وجود سامانه پیام‌رسان واریکوس/ زیرکلاس I / B4-Raf–SnRK2 را با هدف تنظیم جمعیت mRNA برای سازگاری با تنش خشکی اثبات نمود (Soma *et al*., 2021). سایر پروتئین‌های گیرنده‌ای، دوجی-پروتئین‌های روی غشای پلاسمایی (Membrane-anchored G-protein-coupled) به نام‌های GTG1 و GTG2 هستند که از گیرنده‌های ضروری آبسیزیک اسید محسوب می‌شوند.

سایر هورمون‌های گیاهی نیز به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نقش مهمی در تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کنند. گزارش شده است که سالیسیک اسید، اتیلن و جاسمونیک اسید از طریق فعل و انفعال با آبسیزیک اسید، بر پاسخ‌های گیاه به تنش‌های غیرزیستی تأثیر می‌گذارند (Chen *et al*., 2021) (شکل ۳). پروتئین‌های دلا (DELLA proteins) همراه با زریکو (XRICO) که یک القاکننده‌بیوسنتز آبسیزیک اسید است، به عنوان تنظیم‌کننده‌منفی پاسخ به شوری عمل می‌کنند. این پروتئین‌ها با مهار پروتئین‌های گیرنده جاسمونات (Jasmonate ZIM-domain) که تنظیم‌گر منفی پاسخ به شوری هستند، نقشی مشابه با جاسمونیک اسید ایفا می‌کنند. جاسمونیک اسید پروتئین‌های دلا را با مهار اتصال به کمپلکس جیبرلیک اسید-کوتوله یک غیرحساس به جیبرلین (GA-GID1) تحریک و از پروتئولیز این پروتئین‌ها ممانعت به عمل می‌آورد (Lan *et al*., 2014). اتیلن نیز از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های ETR1/ETR2/EIN4 که تنظیم‌کننده‌های منفی تحمل به شوری هستند، نقش تنظیمی مثبت در پاسخ به شوری ایفا می‌کند (Kazan, 2015). جدا از این، عوامل رونویسی AtMYC2 و ERF1 به‌ترتیب به

عنـوان نقـاط همگـرای پیـام‌هـای JA/ABA و JA/ET گزارش شده‌اند. این فعل و انفعالات احتمالاً برای تلفیق پیام‌های مختلف تنش و حفظ تعادل میان واکـنش‌هـای پاسـخ در سـطوح سـلولی و کـل گیـاه ضـروری هسـتند (Hirayama and Shinozaki, 2010).

عملکـرد ناقـل‌هـای آبسـیزیک اسـید در پیـام‌رسـانی بین بافتی و پپتیدهای گیاهی در پیام‌رسـانی نزدیـک و دور

انـواع مختلفـی از ناقـل‌هـای غشـایی بـه عنـوان ناقـل آبسـیزیک اسـید معرفـی شـده‌انـد. ۱۲۹ ژن ناقـل آبسـیزیک اسـید در گیـاه آرابیدوبسـیس شناسـایی شـده اسـت. در میـان ایـن ژن‌هـا، جهـش حـذفی (ناک‌اوت) ژن‌های ناقـل کاسـت متصـل بـه آدنـوزین تـری‌فسـفات (ATP binding cassette transporter) در گیاه آرابیدوبسیس (*AtABCG25*)، یک فنوتیپ حسـاس بـه آبسـیزیک اسـید را نشـان داد. نتـایج تجزیـه‌هـای بیوشـیمیایی نشـان داد کـه *AtABCG25* بـه‌عنـوان خـارج کننـده آبسـیزیک اسـید (ABA exporter) عمـل می‌کند. گیاهانی که این ژن در آنها بیش‌بیـان مـی‌شـود، کـارایی مصـرف آب بـالاتر و هـدررفت آب کمتری نسبت به گیاهان تیـپ وحشـی نشـان مـی‌دهنـد (Kuromori *et al.*, 2022). دیگر ناقل ابسیزیک اسید با



شکل ۳- سازوکارهای تحمل به شوری در گیاهان

Fig. 3. Mechanisms of salinity tolerance in plants (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022)

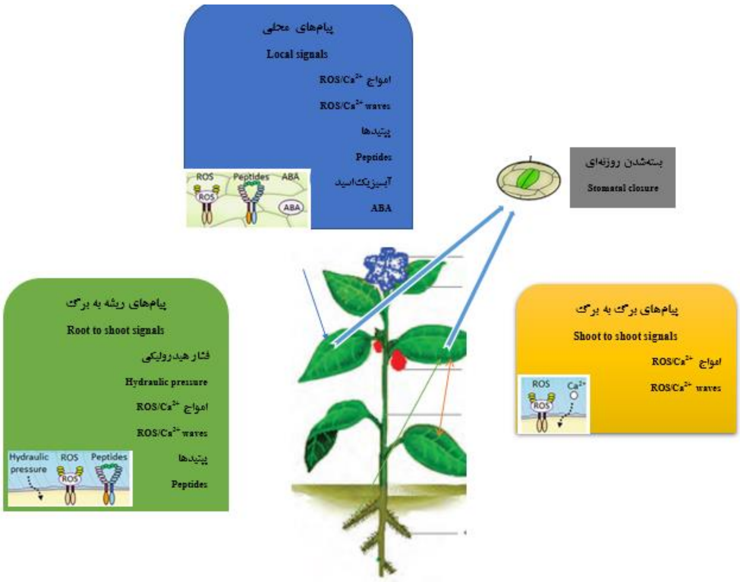


شکل ۴- فسفریلاسیون سلولی گیاه در پاسخ‌های وابسته و مستقل از آبسیزیک اسید در شرایط تنش خشکی

Fig. 4. Phosphorylation signaling of plants in ABA-dependent and ABA-independent responses under drought stress conditions (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022)

نام AtABCG40 در سلول های محافظ روزنه بیان شده و به عنوان واردکننده آبسیزیک اسید (ABA importer) شناخته شده است. بیان این ژن در سلول‌های محافظ روزنه، فرضیه متحرک بودن آبسیزیک اسید بین بافت‌های آوندی و بافت‌های اپیدرمی را نشان می‌دهد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). پیامد جهش حذفی در این ژن، باز شدن روزنه‌ها و حساسیت گیاه به کم‌آبی بود (Kuromori *et al.*, 2022). علاوه بر این، در گیاه آرابیدوبسیس چندین عضو از خانواده ناقل نیترات ۱ / ناقل پپتید (NPF) به عنوان ناقل‌های آبسیزیک اسید شناسایی شده‌اند که با تنظیم میزان آبسیزیک اسید در بسته شدن روزنه‌ها نقش دارند (Shimizu *et al.*, 2021). ژن ناقل سم‌زدایی (*AtDTX50*) در گیاه آرابیدوبسیس به عنوان دیگر ناقل آبسیزیک اسید گزارش شده است. این پروتئین در غشای پلاسمایی قرار داشته و خارج کننده آبسیزیک اسید است. گیاهان حاوی ژن *AtDTX50* جهش‌یافته، دارای هدایت روزنه‌ای کم‌تر و تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی هستند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). تحلیل‌های دقیق از ژنوم گیاه آرابیدوبسیس نشان داد که چارچوب‌های خوانش باز (Open reading frame) پیش‌بینی‌شده، پپتیدهای کوچکی را رمز می‌کنند که به عنوان هورمون در مراحل مختلف رشد گیاه نقش دارند. این پپتیدها ارتباط سلول به سلول و پیام‌رسانی نزدیک و دور را تنظیم می‌کنند (Takahashi

(شکل ۵). *et al*., 2020a; Yoshida *et al*., 2021) خانواده پپتیدهای کلاواتا ۳ / مرتبط با ناحیه حفاظت‌شده جنین (CLE)، از جمله پپتیدهای فعال در فرآیندهای رشد و نمو گیاه هستند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). نتایج مطالعات نشان داده است که یکی از پپتیدهای CLE به‌نام CLE25 به عنوان یک مولکول پیام‌رسان متحرک از ریشه به ساقه عمل نموده و باعث بسته شدن روزنه‌ها و بیان ژن‌های مرتبط با تنش در شرایط تنش خشکی می‌شود (Takahashi *et al*., 2020a). بیان این ژن در بافت‌های آوندی ریشه در پاسخ به خشکی افزایش می‌یابد. گزارش شده است که در برگ‌ها، کینازهای شبه گیرنده‌ای BAM1 و BAM3 به عنوان گیرنده‌های پپتید CLE25 عمل می‌کنند. انتقال پیام توسط این کینازها باعث القای ژن ۹- سیس- اپوکسی کاروتنوئید دی‌اکسیژناز (*NCED3*) برای تجمع آبسیزیک اسید شده که باعث تنظیم درجه گشودگی روزنه‌ها می‌شود (Kuromori *et al*., 2022). بیان ژن *CLE25* در ریشه، اطلاعات مربوط به وقوع تنش خشکی را از ریشه به برگ‌ها منتقل می‌کند و به دنبال آن، علائم سازگاری گیاه با کمبود آب ظاهر می‌شود (Takahashi *et al*., 2020a).



شکل ۵- پیام‌رسانی نزدیک (محلی) و بین بافتی از ریشه‌به برگ و برگ به برگ در پاسخ گیاه به تنش خشکی

Fig. 5. Local and intertissue signaling from root to leaf and leaf to leaf in response of plant to drought stress (Takahashi *et al*., 2020a)

پیام‌های متحرک حاصل فشار هیدرولیکی، امواج ROS/Ca^{2+}، پپتیدها و فیتوهورمون‌ها واسطه ارتباطات بین‌بافتی واز راه دور برای کسب تحمل به خشکی هستند. پیکان سبز، پیام‌های ریشه به برگ مانند پیام‌های حاصل از فشار هیدرولیکی، امواج ROS/Ca^{2+} و پپتیدها را در شرایط خشکی نشان می‌دهد. پیکان نارنجی، نشان دهنده پیام‌رسانی برگ به برگ امواج ROS/Ca^{2+} است که به بسته شدن روزنه‌ها را در شرایط تنش خشکی تنظیم می‌کند. پیکان آبی نیز پیام‌های نزدیک (محلی) امواج ROS/Ca^{2+}، پپتید یا پیام‌های آبسیزیک اسید را نشان می‌دهد که هدایت روزنه‌ای را در شرایط تنش تنظیم می‌کنند

Mobile signals caused by hydraulic pressure, ROS/Ca^{2+} waves, peptides and phytohormones mediate inter-tissue and long-distance communication for drought tolerance. The green arrow shows root to leaf signals such as hydraulic pressure signals, ROS/Ca^{2+} waves and peptides in water deficit conditions. The orange arrow indicates leaf to leaf signaling of ROS/Ca^{2+} waves that mediate stomatal closure under stress conditions. The blue arrow also shows the local signals of ROS/Ca^{2+} waves, peptide or ABA signals that mediate stomatal coductance under stress conditions

سایر عوامل رونویسی در بیان ژن‌های پاسخ دهنده گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

در گیاه آرابیدوبسیس، ژن *RD22* در اثر تنش خشکی القا شده و با کمک آبسیزیک اسید یک پروتئین شبیه به پروتئین بذری ناشناس را رمز می‌کند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). فعال‌سازی این ژن با

مشارکت همزمان عوامل رونویسی MYC (*AtMYC2*) و MYB (*AtMYB2*) صورت می‌گیرد (Abe *et al*., 1997; Hoseinpour *et al*., 2021). بیشبیان *AtMYC2* و *AtMYB2* علاوه بر اینکه باعث تظاهر یک فنوتیپ حساس به آبسیزیک اسید شد، تحمل به تنش اسمزی را نیز بهبود بخشید (شکل ۱). *AtMYC2* یک عامل رونویسی اصلی در رونویسی القا شده با جاسمونیک اسید است و تداخل بین پاسخ‌های آبسیزیک اسید و جاسمونیک اسید از طریق این عامل صورت می‌گیرد (Kazan, 2015). علاوه بر این، بیش‌بیان *OsMYB55* در گیاه برنج باعث تجمع آمینواسیدهای گلوتامیک اسید، گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA)، آرژنین و پرولین و بهبود تحمل به گرما در مرحله رویشی گیاه می‌شود (Kalaipandian *et al*., 2023). سه عامل رونویسی NAC از جمله RD26، از طریق اتصال به عنصر با عملکرد سیس، باعث تنظیم مثبت ژن پاسخ دهنده سریع به خشکی می‌شوند (Tran *et al*., 2007). لازم به ذکر است که عوامل رونویسی هومئودومین انگشت روی (ZF-HD) برای بیان ژن *ERD1* فعال‌شده توسط NAC ضروری هستند (Tran *et al*., 2007; Hoseinpour *et al*., 2021). ژن *ERD1* که یک زیرواحد تنظیمی پروتئاز Clp را رمز می‌کند، قبل از انباشت آبسیزیک اسید به خشکی و شوری شدید پاسخ می‌دهد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). این الگوی بیانی نشان می‌دهد که یک مسیر مستقل از آبسیزیک اسید در پاسخ گیاه آرابیدوبسیس به تنش خشکی وجود دارد (Nakashima and Suenaga, 2017). نتاج مطالعات نشان داده است که *TaNAC21* مقاومت به گرما را با تنظیم بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش گرما (مثل *AtHSFA3* و *AtDREB2A*) در گندم افزایش داد (Kalaipandian *et al*., 2023). به‌علاوه بیش‌بیان ژن *OsNAC3* در برنج، باعث القای تحمل به دمای بالا از طریق تعدیل هموستاز گونه‌های فعال اکسیژن شد (Fang *et al*., 2015). گزارشات حاکی از آن است که ژن *TCP13* در اثر خشکی القا شده و باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی در برگ‌های گیاه می‌شود (Urano *et al*., 2022). در ژنوتیپ‌های جهش یافته حذفی (ناکوت‌شده) *TCP13*، رشد ریشه غیرحساس به آبسیزیک اسید مشاهده شده و باعث کاهش بیان ژن قابل القای خشکی شد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). سه عامل رونویسی زیپ‌لوسینی‌بازی (bZIP60/bZIP17/bZIP28) در واکنش پروتئینی باز نشده (Unfolded protein response) یا پاسخ‌های تنش شبکه آندوپلاسمی در تنش‌های غیرزیستی عمل می‌کنند. دبل‌ناکوت ژنوتیپ‌های جهش یافته *bZIP17* و *bZIP28* باعث تظاهر یک فنوتیپ ریشه‌کوتاه و بیش‌بیان *bZIP60* باعث افزایش تحمل به شوری شد (Fujita *et al*., 2018; Kim *et al*., 2022). لازم به ذکر است که جهش سرکوب‌گر (Suppressor mutation) در ژن *TAF12b* باعث بازیابی رشد ریشه در ژنوتیپ‌های جهش یافته دبل‌ناکوت شده گردید (Kim *et al*., 2022). دیگر عامل رونویسی، پروتئین هومئوباکس HB6 به عنوان تنظیم کننده منفی پاسخ به آبسیزیک اسید عمل می‌کند. تعامل این پروتئین با راه‌اندازهای (پروموترهای) القایی آبسیزیک اسید و همچنین پروتئین‌فسفاتاز غیرحساس به آبسیزیک اسید، نشان دهنده نقش آن در پاسخ به آبسیزیک اسید و بازشدن روزنه‌ها می‌باشد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). در شرایط تنش گرما، عوامل رونویسی WRKY18، WRKY25، WRKY26، WRKY33، WRKY39، WRKY40، WRKY46 و WRKY68 به صورت هماهنگ، تحمل حرارتی گیاه را با تنظیم مثبت مسیرهای پیام‌رسان مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی القا می‌کنند (Li *et al*., 2020). بیش‌بیان *OsWRKY11* تحت کنترل راه‌انداز HSP101 باعث القای تحمل به گرما در برنج شد (Wu *et al*., 2020). اسامی ژن‌ها و عوامل موثر در پاسخ و تحمل به تنش‌های غیرزیستی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- اسامی ژن‌ها و عوامل موثر در پاسخ و تحمل به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان

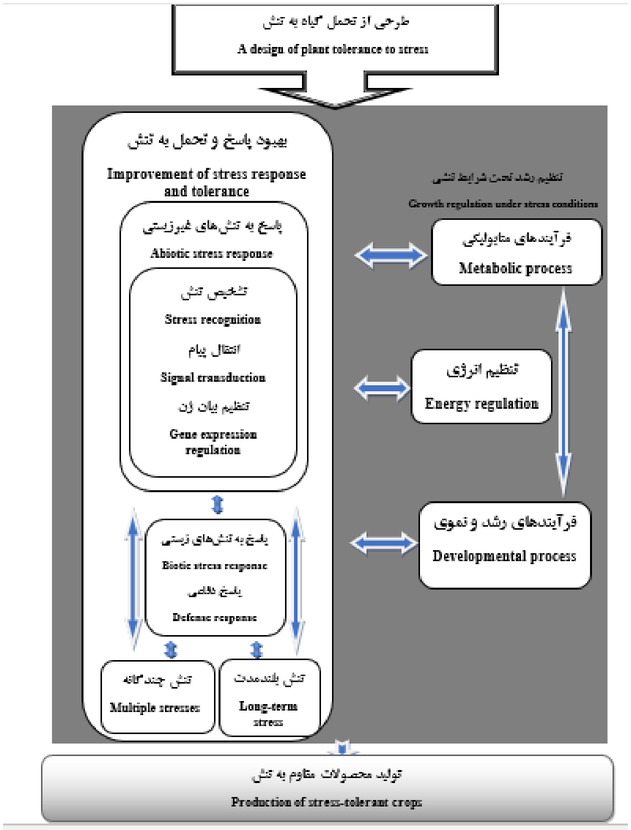
Table 1 Names of genes and effective factors in response and tolerance to abiotic stresses in plants

Abiotic stress	تنش‌های غیرزیستی	Encoded protein	پروتئین رمزشونده	The name of gene نام ژن	References منابع
			Inducible genes involved in stress tolerance	**ژن‌های القایی درگیر در تحمل به تنش**	
Drought, Cold	خشکی / سرما	Late embryogenesis abundant proteins	پروتئین‌های فراوان در مرحله انتهایی جنین‌زایی	*LEA*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	Early responsive to dehydration 1 Clp protease regulatory subunit	زیرواحد تنظیمی پروتئاز Clp پاسخ دهنده سریع به خشکی	*ERD1*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Heat, Drought	گرما / خشکی	Heat shock protein	پروتئین شوک حرارتی	*HSP*	Kalaipandian *et al*., 2023
Drought, Cold, Heat	خشکی / سرما / گرما	Galactinol synthase	گالاکتینول سنتاز	*GolS*	Urano *et al*., 2009
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	GABA decarboxylase	گاما آمینو بوتیریک اسیدِ کربوکسیلاز	*GAD*	Urano *et al*., 2009
Drought, Cold, ABA	خشکی / سرما / آبسیزیک‌اسید	Responsive to dehydration 29	پروتئین پاسخ دهنده به خشکی ۲۹	*RD29*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	Responsive to dehydration 22 Unidentified seed protein	پروتئین بذری ناشناخته پاسخ دهنده به خشکی ۲۲	*RD22*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
			Transcription factors	**عوامل رونویسی**	
Heat	گرما	Heat shock factor A1	عامل شوک حرارتی A1	*HSFA1*	Kalaipandian *et al*., 2023
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	Homeobox 6 TF	عامل رونویسی هومئوباکس ۶	*HB6*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Cold	سرما	DRE-binding protein 1/ C-repeat binding factor	عامل متصل به CRT/پروتئین متصل به DRE1	*DREB1/CBF*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, Heat	سرما / گرما	DRE-binding protein 2	پروتئین متصل به DRE2	*DREB2*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Heat, Salinity	گرما / شوری	WRKY TF	عامل رونویسی WRKY	*WRKY*	Li *et al*., 2020; Chen *et al*., 2012
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	ABRE-binding protein TF	عامل رونویسی متصل به عنصر پاسخ دهنده به آبسیزیک‌اسید	*AREB/ABF*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	MYC related TF 2	عامل رونویسی مرتبط با MYC2	*AtMYC2*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	MYB related TF 2	عامل رونویسی مرتبط با MYB2	*AtMYB2*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought	خشکی	NAC TF	عامل رونویسی NAC	*NAC/RD26*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Heat	گرما	NAC TF	عامل رونویسی NAC	*TaNAC21*	Kalaipandian *et al*., 2023
Drought	خشکی	Zn finger-homeodomain TF	عامل رونویسی هومئودومین انگشت‌روی	*ZF-HD*	Wohlbach *et al*., 2008
Drought	خشکی	TCP family 13 TF	عامل رونویسی خانواده TCP	*TCP13*	Urano *et al*., 2022
ER	شبکه آندوپلاسمی	bZIP TF in ER stress response	عامل رونویسی زیپ‌لوسینی‌بازی پاسخ دهنده به تنش شبکه آندوپلاسمی	*bZIP60*	Fujita *et al*., 2018
ER	شبکه آندوپلاسمی	bZIP TF in ER stress response	عامل رونویسی زیپ‌لوسینی‌بازی پاسخ دهنده به تنش شبکه آندوپلاسمی	*bZIP17/28*	Kim *et al*., 2018
ER	شبکه آندوپلاسمی	TATA binding factor 12b	عامل 12b متصل‌شونده به تاتاباکس	*TAF12b*	Kim *et al*., 2022
Cold	سرما	Calmodulin-binding TF	عامل رونویسی متصل به کالمودیولین	*CAMTA1*	Kidokoro *et al*., 2022
			Stress-responsive signaling factors	**عوامل پیام‌رسان پاسخ دهنده به تنش**	
Salinity	شوری	SNF- related protein kinase 1	پروتئین کیناز ۱ مرتبط با ساکارز غیرتخمیری ۱	*SnRK1*	Coello *et al*., 2011
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	SNF-like protein kinase 2	پروتئین شبهِ کیناز ۲ مرتبط با ساکارز غیرتخمیری ۱	*SnRK2*	Soma *et al*., 2021
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	Protein phosphatase 2C	پروتئین‌فسفاتاز 2C	*PP2C*	Yoshida *et al*., 2021
ABA	آبسیزیک‌اسید	START-type ABA receptor	گیرنده آبسیزیک‌اسید از نوع استارت	*PYR/PYL/RCAR*	Park *et al*., 2009
Drought, ABA	خشکی / آبسیزیک‌اسید	MAPK kinase kinase (MAPKKK)	پروتئین کیناز کیناز کیناز فعال‌شده با میتوژن	*Raf-like kinase*	Soma *et al*., 2021
Drought	خشکی	VARICOSE mRNA decapping	آنزیم جداساز mRNA (واریکوس)	*VCS*	Soma *et al*., 2021
Dry	خشکی	Casein kinase 1	کازئین کیناز ۱	*CK1*	Kalaipandian *et al*., 2023
Drought, Cold, ABA	خشکی / سرما / آبسیزیک‌اسید	Ca^{2+}-dependent protein kinase	پروتئین کیناز وابسته به کلسیم	*CPK*	Soma *et al*., 2021
Drought, Salinity	خشکی / شوری	Arabidopsis histidine kinase 1	هیستیدین کیناز ۱ آرابیدوبسیس	*ATHK1/AHK1*	Wohlbach *et al*., 2008
Drought, Cold	خشکی / سرما	MID1 homolog of yeast Ca2+-permeable stretch-activated channel	هومولوگ MID1 مخمر-کانال فعال‌شده توسط کشش قابل نفوذ کلسیم	*MCA1*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022
Drought, Salinity	خشکی / شوری	Hyperosmolarity induced Ca2+ increase	افزایش یون کلسیم ناشی از هیپراسمولاریتی	*OSCA1*	Murthy *et al*., 2018; Murthy *et al*., 2018
ROS	گونه‌های فعال اکسیژن	H_2O_2-induced Ca^{2+} increase	افزایش یون کلسیم ناشی از هیدروژن‌پراکسید	*HPCA*	Wu*et al*., 2020
ROS	گونه‌های فعال اکسیژن	Respiratory burst oxidase D	اُکسیداز D انفجار تنفسی	*RBOHD*	Wu*et al*., 2020
Dry	خشکی	Clavata3 related peptide 25	پپتید ۲۵ مرتبط با ناحیه حفاظت‌شده جنین	*CLE25*	Takahashi *et al*., 2020a
Salinity	شوری	Na^+ /H^+ antiporter	آنتی‌پورتر Na^+/H^+	*SOS1*	Brini and Masmoudi, 2012
Salinity	شوری	Ca^{2+} binding protein	پروتئین متصل‌شونده به یون کلسیم	*SOS3*	Gong *et al*., 2000
			Transporters and enzymes related to abscisic acid	**ناقل‌ها و آنزیم‌های مرتبط با آبسیزیک‌اسید**	
ABA synthesis	سنتز آبسیزیک‌اسید	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase	۹-سیس-اپوکسی کاروتنوئیدی‌اکسیژناز	*NCED*	Finkelstein, 2013
ABA degradation	تجزیه آبسیزیک‌اسید	P450 cytochrome oxidase	سیتوکروم اکسیداز P450	*CYP707A*	Finkelstein, 2013
ABA transport	انتقال آبسیزیک‌اسید	ATP-binding cassette transporter	ناقل کاست متصل به آدنوزین تری‌فسفات	*ABC*	Kuromori *et al*., 2022
ABA transport	انتقال آبسیزیک‌اسید	Nitrate/peptide transporter	ناقل پپتید / نیترات	*NPF*	Shimizu *et al*., 2021
ABA transport	انتقال آبسیزیک‌اسید	Detoxification efflux carrier	ناقل جریان سم‌زدایی	*DTX*	Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022

سازوکارهای تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی و استفاده از ژنومیکس برای تحمل تنش

نتایج تحقیقات انجام شده روی گونه‌های گیاهی در شرایط محیطی دشوار، اطلاعات مهمی در مورد سازوکارهای تحمل به تنش‌های محیطی فراهم نموده است (Hirayama and Shinozaki, 2010). یکی از مهم‌ترین گروه‌های گیاهی موردمطالعه، هالوفیت‌ها هستند که در قادر به رشد در شرایط شوری بالا هستند. به طور کلی سازوکارهای تحمل هالوفیت‌ها به شوری شدید در گونه‌های مختلف هالوفیتی متفاوت است؛ اگرچه ویژگی‌های مشترکی در تنظیم دقیق محتوای یون‌های سدیم، کلسیم و کلر درون‌زاد در این گونه‌ها مشاهده شده است. در این راستا، گیاه شورپسند شاهی‌نمکی (*Thellungiella halophila*) به دلیل نزدیک بودن با آرابیدوبسیس و قدرت تحمل سایر تنش‌های غیرزیستی، مورد توجه قرار گرفته است. نتایج تحقیقات نشان داده است که این گیاه هالوفیت‌ها خصوصیاتی مانند تجمع بیشتر پرولین ، گزینش‌پذیری بالا برای یون‌ها و تنظیم حساس روزنه‌ای دارد. تلاش شده است تا از ژن‌های گیاه شاهی‌نمکی برای القای مقاومت به شوری در آرابیدوبسیس استفاده شود و در همین رابطه چندین ژن کاندید شناسایی شده‌اند (Flowers and Colmer, 2008). این رویکرد برای درک اساس مولکولی تحمل به شوری در هالوفیت‌ها مفید است. در دهه اخیر، تجزیه مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL) در گونه‌های متحمل و غیرمتحمل گیاهی توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Abdi *et al.*, 2012; Abdi *et al.*, 2013; Saeed and Darvishzadeh 2017; Ahmadpour *et al.*, 2018; Alipour and Darvishzadeh, 2020; Hanif *et al.*, 2021; Jabbari *et al.*, 2021; Jabbari *et al.*, 2022). مزیت عمده روش‌های مبتنی بر QTL این است که با هرمی کردن و یا تجمیع QTLها، تولید ارقام متحمل به تنش‌های محیطی امکان‌پذیر می‌شود (Takeda and Matsuoka, 2008). با تجزیه QTL ارقام حساس و متحمل به شوری برنج، یک مکان ژنی SKC1 را که یک ناقل سدیم از نوع ناقل پتاسیم با میل ترکیبی بالا (HKT) را کد می‌کند، شناسایی شده است (Selvaraj *et al.*, 2017). گزارش شده است که بیان نابجای اجزای موثر در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، باعث بهبود تحمل به تنش می‌شود، با این حال این موضوع اغلب باعث کاهش رشد گیاه می‌شود که احتمالاً به دلیل اثر منفی عوامل تجمع‌یافته بر کارکردهای سلول است (Hirayama and Shinozaki, 2010). چنین اثرات نامطلوبی را می‌توان با انتخاب راه‌انداز مناسب تنش-القا کاهش داد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). ترکیب ژن‌های مربوط به تنش در گیاهان آرابیدوبسیس و برنج با راه‌انداز مختلف مؤثر بوده است. به‌عنوان مثال، بیش‌بیان ژن *AtGolS2* در ترکیب با راه‌انداز یوبی‌کوئیتین، باعث افزایش تحمل به خشکی در برنج تراریخت شده و باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در آزمایشات مزرعه‌ای شد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). *AtGolS2* یک ژن در گیاه آرابیدوبسیس است که گالاکتینول‌سنتاز (GolS) را که یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز رافینوز است کد می‌کند. بوته‌های برنج با بیش‌بیان *AtGolS2* محتوای آب نسبی بیشتری در برگ‌ها داشته و تحمل بهتری به خشکی نشان دادند (Selvaraj *et al.*, 2017). دست‌ورزی دقیق عوامل رونویسی نیز می‌تواند در این رابطه مورد استفاده قرار گیرد. برخی از عوامل رونویسی یا ناقل‌های پیام ممکن است با حذف ناحیه‌های بازدارنده یا تغییر باقی‌مانده‌های آمینواسیدی تبدیل به فرم‌های فعال ساختاری شوند (Hirayama and Shinozaki, 2010). گزارشات نشان داده است که عوامل رونویسی DREB و AREB برای اصلاح تحمل به خشکی و عملکرد بالاتر در شرایط خشک مفید هستند (Nakashima and Suenaga, 2017). راهبردهای ذکر شده، روش‌های امیدوار کننده‌ای برای بهبود تحمل به تنش هستند، با این حال بهبود تحمل گیاهان با استفاده از این راهبردها نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. در اکثر

گزارشات، میزان تحمل گیاه به تنش تنها در دوره‌های زمانی کوتاه مورد بررسی قرار گرفته است. در عین حال همزمانی تنش‌های مختلف باعث ایجاد برخی محدودیت‌ها از جمله تغییرات فیزیولوژیکی غیرمنتظره و مخرب در تمام دوره زندگی گیاه می‌شود (Nakashima and Suenaga, 2017). پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و آبسیزیک اسید با پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا به‌صورت بسیار پیچیده تعامل دارند که اساس مولکولی این تعامل هنوز مشخص نشده است. بر این اساس گیاهان تراریخت که حامل یک ژن یا ژن‌های طراحی‌شده برای بهبود تحمل به یک تنش خاص هستند، ممکن است با مشکلات پیش‌بینی نشده‌ای روبه‌رو شوند. برای غلبه بر این مشکلات لازم است کل سامانه پاسخ دهنده گیاه به تنش به طور کامل شناخته شود (شکل ۶).



شکل ۶- طراحی گیاهان متحمل به تنش‌های محیطی

Fig. 6. Designing of environmental stress-tolerant plants

به‌منظور تولید گیاهان متحمل به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی با عملکرد بالا، اطلاعات جامعی درباره فرآیندهای موثر در پاسخ به تنش و تنظیم انرژی، فرآیندهای متابولیکی و رشد و نموی مورد نیاز است. ادغام این موارد، راهکارهای مناسبی جهت دست‌ورزی گیاهان فراهم خواهد کرد

To produce plant tolerant to various abiotic and biotic stresses with high yielding, comprehensive knowledge about effective processes in response to stress and energy regulation, metabolic processes and growth and development, are required. Integration of these provides appropriate solutions to plant manipulation

استفاده از روش فنوتایپینگ کمی برای بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

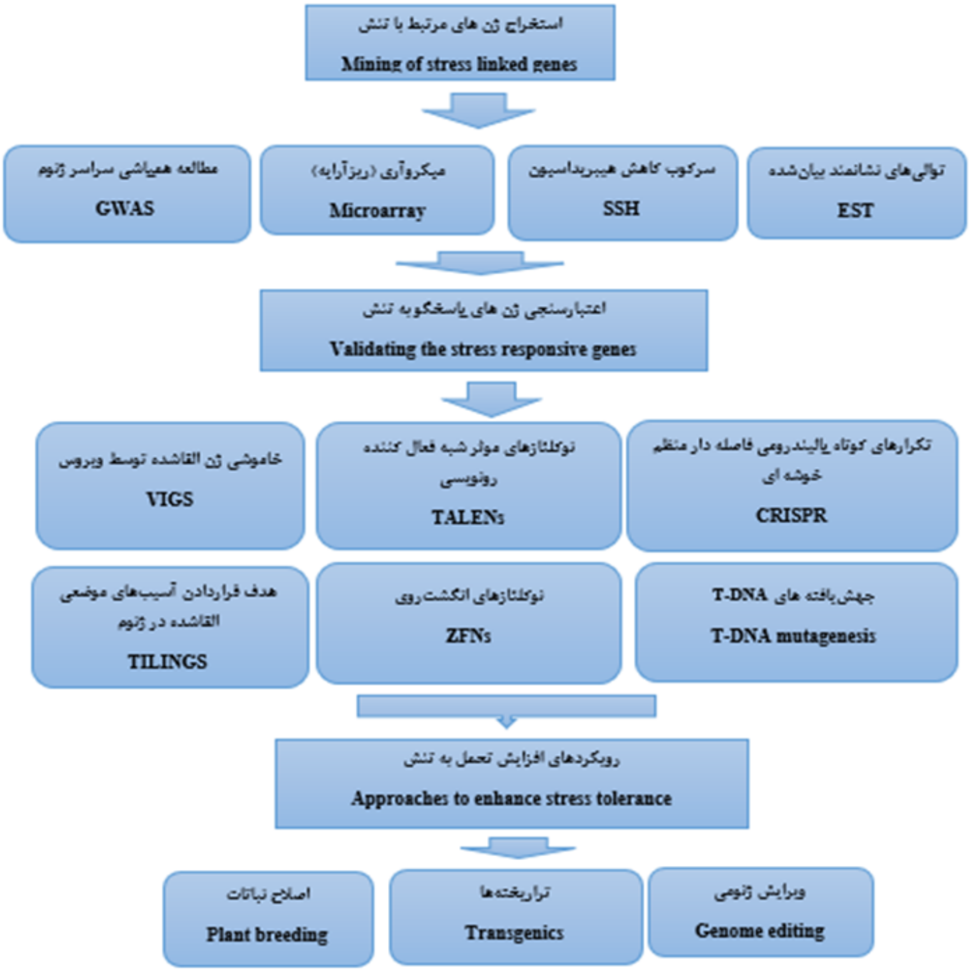
لازمه شناسایی سازوکارهای پیچیده پاسخ دهنده گیاه به تنش، برآورد رشد گیاه در شرایط تنش و شرایط بدون تنش است. روش فنوتایپینگ کمی با تنظیم زمان و قدرت محرک‌های محیطی نامطلوب و مشاهدات

دوره‌ای عوامل رشد گیاه در شرایط تنش، امکان اندازه‌گیری خودکار رشد گیاه را فراهم می‌کند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022). روش فنوتایپینگ خودکار با استفاده از سیستم‌های بزرگ‌مقیاس، غیرمخرب و با توان عملیاتی بالا برای تحلیل تغییرات وابسته به زمان در رشد گیاه، ابزارهای قدرتمندی برای تحقیقات گیاهی محسوب می‌شود (Li *et al.*, 2020). با ترکیب پلتفرم‌های خودکار با ایستگاه‌های توزین و آبیاری خودکار و چرخش مداوم گیاهان در آزمایشات میدانی، سامانه فنوتایپینگ گیاهی یکپارچه ریکن (RIKEN Integrated Plant Phenotyping System) ابداع شده است (Fujita *et al.*, 2018). این سامانه با کنترل دقیق عوامل رشد از جمله دما، نور، در دسترس بودن آب و مواد غذایی عمل می‌کند (Kuromori *et al.*, 2022). با استفاده از این سامانه دخالت متابولیسم آبسیزیک اسید بر کارایی مصرف آب ارزیابی شد (Fujita *et al.*, 2018). با استفاده از سامانه فنوتایپینگ کمی، می‌توان جهش‌های حذفی ژن و گونه‌های ژنتیکی طبیعی را به‌منظور نقشه‌برداری ژنی با توان عملیاتی بالا و تجزیه بزرگ‌مقیاس مسیرهای بیان ژن و سطوح متابولیت‌ها و هورمون‌های گیاهی مورد تجزیه و تحلیل قرار داد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2022).

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

میزان موفقیت روش‌های به‌نژادی سنتی (کلاسیک) برای افزایش تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی تاکنون محدود بوده است. شناسایی پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های غیرزیستی در دهه گذشته (دوره پساژنومی)، جهش چشمگیری داشته است. در طی این دوره، سامانه‌های تنظیمی پیچیده‌ای در پاسخ و تحمل به تنش‌های خشکی و دما و تداخل بین آن‌ها در شبکه‌های تنظیمی شناسایی شده است. هنوز مشخص نیست که گیاهان چگونه تغییرات پیچیده محیطی و تنش را به‌منظور پاسخ و زنده ماندن در شرایط نامساعد محیطی تشخیص می‌دهند. بدیهی است که در دهه‌های آینده، شناسایی الگوهای مولکولی تشخیص تنش، شبکه‌های پیام‌رسانی و پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی حائز اهمیت خواهد بود. برای شناخت پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، روش فنوتایپینگ کمی با استفاده از فناوری تصویربرداری و ترکیب آن با فناوری اطلاعات بسیار مهم است. داده‌های فنوتیپی در شرایط مختلف محیطی، برای ارزیابی عملکرد گیاه در شرایط تنش مفید خواهد بود. علاوه بر این، ارزیابی رشد و نمو گیاه در شرایط کنترل شده اطلاعات مفیدی برای فنوتایپینگ کمی فراهم خواهد کرد. البته استفاده از این روش به تنهایی جهت شناخت پاسخ‌های گیاهی به تنش‌های محیطی کافی نیست. در دوران پساژنوم، روش‌هایی مانند توالی‌یابی نسل بعد، توسعه ابزارهای زیست‌فناوری پیشرفته و در دسترس بودن توالی ژنوم، فرصت‌های جدیدی را برای بهبود تحمل به تنش در گیاهان زراعی ایجاد کرده است. بر این اساس استفاده از رویکردهای ژنومی مختلف مانند تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (Genome wide association studies)، تجزیه و تحلیل ریزآرایه‌ها و هیبریداسیون حذفی کاهشی (Suppression subtractive hybridization) به‌منظور شناسایی ژن‌های مرتبط با تنش‌های غیرزیستی کارساز خواهد بود. به‌علاوه اعتبارسنجی عملکرد ژن‌های کاندید به کمک رویکردهای ژنتیک معکوس و ژنتیک پیشرو و در نتیجه استفاده از این ژن‌ها جهت افزایش تحمل به تنش‌ها با روش‌های مختلف به‌نژادی، تراریختی و ویرایش ژنومی مفید خواهد بود (شکل ۷). در میان روش‌های ویرایش ژنومی، فناوری CRISPR-Cas9 یک روش دقیق و جدید در زمینه ویرایش هدفمند ژنوم است که جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان زراعی و ایجاد صفات جدید گیاهی استفاده می‌شود. با استفاده از ژنوتیپ‌های جهش یافته از جمله منابع ژنی حذف (ناکوت) شده لاین‌ها با کمک فناوری CRISPR-Cas9 و

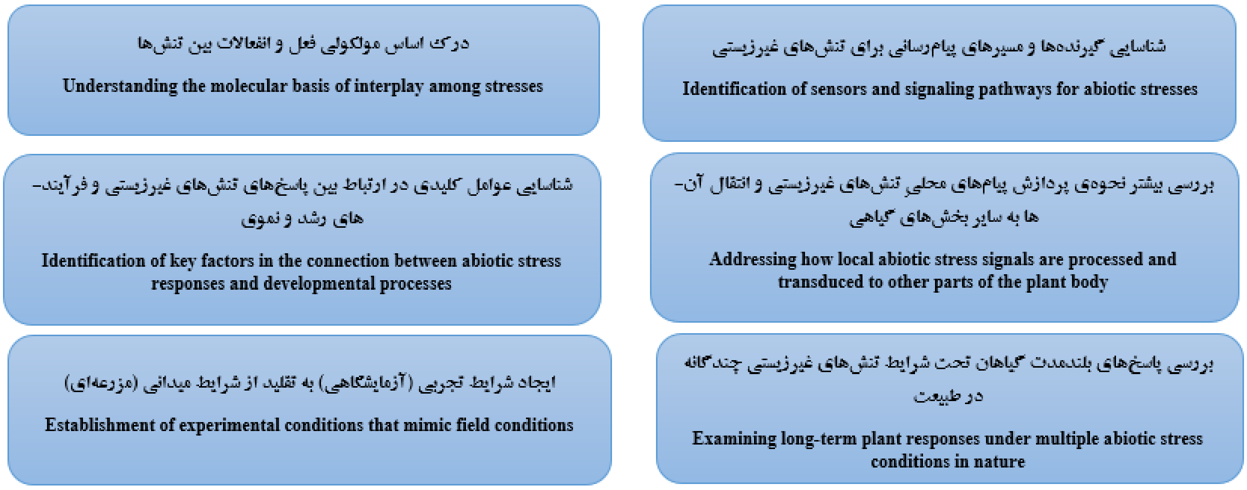
اکوتیپ‌های گیاه آرابیدوبسیس، می‌توان اطلاعات دقیق و مفیدی در مورد پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزیستی فراهم آورد و به‌دنبال آن پاسخ‌های گیاهان زراعی در سطح مولکولی را مورد تجزیه و تحلیل قرار داد. افزون بر این، با ادغام ژنومیکس و علم داده‌پردازی، می‌توان پاسخ‌های گیاهی و عملکرد گیاه را در ترکیب‌های تنش‌های محیطی توصیف کرد. از این منظر شناسایی پایه‌های مولکولی تنوع فنوتیپی مرتبط با تنش و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل با عملکرد بالا، مطلوب می‌باشد. با توجه به تأثیرپذیری منفی فرآیندهای شیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان از تنش‌های غیرزیستی، شناخت سامانه‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تنظیم ژنی ضروری است. در این راستا، درک بهتر سازوکارهای پاسخ به تنش‌های غیرزیستی کاربرد مؤثر فناوری ژنومی را در بهبود عملکرد گیاهان زراعی وکشاورزی پایدار میسر خواهد نمود. دستاوردهای اخیر در زمینه تغییر گیاهان و انتخاب به کمک نشانگر و گزینش ژنومی، همراه با استفاده از ژنومیکس کارکردی، پتانسیل بالایی را برای بهبود عملکرد و تولید ارقام پرمحصول و پایدار زراعی فراهم خواهد کرد.



شکل ۷- رویکردهای مورد نظر برای شناسایی و استخراج ژن‌های مرتبط با تنش‌های غیرزیستی، اعتبارسنجی عملکردی ژن‌های کاندید و روش‌های استفاده از آنها برای افزایش تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی

Fig. 7. Approaches to the mining of genes associated to abiotic stresses, functional validation of candidate genes and methods that can use these functionally validated genes to improve crops tolerance to environmental stresses

با تمام این تفاسیر، چند مشکل اساسی فرا روی اصلاح مولکولی گیاهان متحمل به تنش وجود دارد. نتایج مطالعات محققان نشان داده است که پاسخ سلول‌های تمایز یافته در ریشه‌های گیاه به تنش‌های غیرزیستی مختلف متفاوت است. این موضوع نشان می‌دهد که انواع مختلف سلول‌ها پاسخ‌های یکسانی به تنش‌های غیرزیستی ندارند. از سوی دیگر، برای تشریح اثر تنش بر کل گیاه، باید پاسخ به تنش را در سلول‌های تمایز یافته، بافت‌ها و اندام‌ها مورد بررسی قرار داده و داده‌های حاصل را در ارتباط با یکدیگر تجزیه و تحلیل کرد. برای ادغام داده‌ها و ترسیم یک تصویر کلی از پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان، مجموعه‌ای از اطلاعات زیستی و ریاضی‌زیستی مورد نیاز است. دیدگاه‌های نگارندگان این مقاله از نظر چالش‌های موجود برای شناخت یکپارچه پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های غیرزیستی و افزایش تحمل آنها و امکان حل آنها به کمک پیشرفت‌های اخیر در دوره پساژنومی، در شکل ۸ خلاصه شده است.



شکل ۸- چالش‌های آینده برای شناخت یکپارچه پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های غیرزیستی

Fig. 8. Future challenges for the in integrated understanding of crop responses to abiotic stresses

منابع مورد استفاده

References

Abdi, N., Darvishzadeh, R., Hatami Maleki, H., Haddadi, P. and Sarrafi, A. 2013. Identification of quantitative trait loci for relative water content and chlorophyll concentration traits in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. Zemdirbyste-Agriculture, 100(2), pp.159-166. https://doi.org/10.13080/z-a.2013.100.020

Abdi, N., Darvishzadeh, R., Jafari, M., Pirzad, A. and Haddadi, P. 2012. Genetic analysis and QTL mapping of agro-morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under two contrasting water treatment conditions. Plant OMICS. 5(2), pp.149-158. https://hal.inrae.fr/hal-02642526

Abe, H., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, T., Iwasaki, T., Hosokawa, D. and Shinozaki, K. 1997. Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. Plant Cell, 9, pp.1859–1868. https://doi.org/10.1105/tpc.9.10.1859

Ahmadpour, S., Sofalian, O., Darvishzadeh, R. and Abbaspour, N. 2018. Preliminary evidence of the associations between DNA markers and morphological characters in sunflower under natural and salt stress conditions. *Zemdirbyste-Agriculture,* 105(3), pp.279-286. https://doi.org/10.13080/z-a.2018.105.036

Akbari, E., Darvishzadeh, R., Abdollahi, B. Besharat, S. 2021. Study on expression of transcription factors AP2-Domain, HD-ZIP, WRKY and MYB in oily sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences,* 14(3), pp.569-583. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/escs.2020.2979.1769

Alipour, H. and Darvishzadeh, R. 2019. Association mapping of quantitative traits in molecular cereal breeding (Review Article). *Cereal Research,* 9(3), pp.271-298. [In Persian]. https://doi.org/10.22124/CR.2019.14333.1518

Banifatemeh, M., Darvishzadeh, R. and Arzhang, S. 2021. The expression pattern of *ZmNHX1*, *ZmHKT1*, and *ZmMYB30* genes in maize under salinity stress. *Agricultural Biotechnology Journal,* 13(1), pp.137-158. [In Persian]. https://doi.org/10.22103/JAB.2021.15923.1239

Brini, F. and Masmoudi, K. 2012. Ion transporters and abiotic stress tolerance in plants. *ISRN Molecular Biology*. 927436. https://doi.org/10.5402/2012/927436

Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C. and Yu, D. 2012. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochimica et Biophysica Acta,* 1819, pp.120-128. https://doi.org/10.1016/j.bbagrm.2011.09.002

Chen, T., Shabala, S., Niu, Y., Chen, Z. H., Shabala, L., Meinke, H., Venkataraman, G., Pareek, A., Xu, J. and Zhou, M. 2021. Molecular mechanisms of salinity tolerance in rice. *Crop Journal,* 9(3), pp.506-520. https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.03.005

Coello, P., Hey, S. J. and Halford, N. G. 2011. The sucrose non-fermenting-1-related (SnRK) family of protein kinases: Potential for manipulation to improve stress tolerance and increase yield. *Journal of Experimental Botany,* 62, pp.883-893. https://doi.org/10.1093/jxb/erq331

Darvishzadeh, R. and Pirzad, A. 2020. The effect of salt stress (NaCl) on physiological and antioxidant activities in salt susceptible and resistant lines of oily sunflower (*Helianthus annuus* L.) at seedling stage. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology),* 33(4), pp.451-464. [In Persian]. https://doi.org/20.1001.1.23832738.1399.33.4.4.0

Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G. and Schroeder, J. I. 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science,* 19(6), pp.371-9. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001

Doherty, C. J., Van Buskirk, H. A., Myers, S. J. and Thomashow, M. F. 2009. Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell,* 21, pp. 972–984. https://doi.org/10.1105/tpc.108.063958

Ebrahimipour, Z., Darvishzadeh, R., Arzhang, S. 2020. Study the expression of *SOS1*, *P5CS1* and *PMP3-6* genes in maize under salt stress. *Crop Biotechnology,* 10(30), pp.1-14. [In Persian]. https://doi.org/10.30473/cb.2020.52969.1807

Fang, Y., Liao, K., Du, H., Xu, Y., Song, H., Li, X. and Xiong, L. A. 2015. stress-responsive NAC transcription

factor SNAC3 confers heat and drought tolerance through modulation of reactive oxygen species in rice. *Journal of Experimental Botany,* 66, pp.6803–6817. https://doi.org/10.1093/jxb/erv386

Finkelstein, R. 2013. Abscisic acid synthesis and response. *Arabidopsis* Book. 11, e0166. https://doi.org/10.1199/tab.0166

Flowers, T. J. and Colmer, T. D. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist,* 179, pp.945–963. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x

Fujita, M., Tanabara, T., Urano, K., Kikuchi, S. and Shinozaki, K. 2018. RIPPS: A plant phenotyping system for quantitative evaluation of growth under controlled environmental stress conditions. *Plant Cell Physiology*, 59, pp.2030–2038. https://doi.org/10.1093/pcp/pcy122

Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R. and Abhari, A. 2022. Drought stress and strategies to cope with it in crops. *Journal of Plant Environmental Physiology,* 17(67), pp.152-184. [In Persian]. https://doi.org/10.30495/IPER.2022.1966339.1818

Gong, D., Guo, Y., Schumaker, K. S. and Zhu, J. K. 2004. The SOS3 family of calcium sensors and SOS2 family of protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Physiology,* 134, pp.919-926. http://doi.org/10.1104/pp.103.037440

Habibi, N., Darvishzadeh, R. and Abdollahi Mandoulakani, B. 2020. Studying the expression pattern of *PMP3* and dehydrin genes in AS5305 and 9CSA3 oily sunflower lines under salt stress. *Journal of Crop Breeding*, 12(35), pp.225-237. [In Persian]. https://doi.org/10.52547/jcb.12.35.225

Hanif, U., Alipour, H., Gul, A., Jing, L., Darvishzadeh, R., Amir, R., Munir, F., Ilyas, M. K., Ghafoor, A., Siddiqui, S.U., St Amand, P., Bernado, A., Bai, G., Sonder, K., Rasheed, A., He, Z. and Li, H. 2021. Characterization of the genetic basis of local adaptation of wheat landraces from Iran and Pakistan using genome- wide association study. *The Plant Genome,* 14(3), e20096. https://doi.org/10.1002/tpg2.20096

Hasaneh, S., Darvishzadeh, R., Abdollahi, B., Besharat, S., Hoseinpour, F. and Ebrahimipour, Z. 2021. Assessment of relative expression of dehydrin, aquaporin and *Ha-L1L* genes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes under drought stress conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences,* 23(1), pp.14-29. [In Persian]. dor: 20.1001.1.15625540.1400.23.1.2.6.

Hirayama, T. and Shinozaki, K. 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant Journal.* 61(6), pp.1041-52. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04124.x

Hoseinpour, F., Darvishzadeh, R. and Abdollahi, B. 2019. Study on the expression of transcription factors WRKY and AP2 Domain in oily sunflower under salt stress. *Genetic Engineering and Biosafety Journal,* 8(2), pp.178-188. [In Persian]. dor: 20.1001.1.25885073.1398.8.2.8.6

Hoseinpour, F., Darvishzadeh, R., Abdollahi Mandoulakani, B., Habibi, N., Dardan, E. and Ranjbar, A. 2021. Evaluation of relative changes in the expression level of SOS2, MYB-related and HD-ZIP genes in oilseed sunflower lines under salinity stress. *Journal of Crop Breeding,* 13 (39), pp.152-165. [In Persian]. https://doi.org10.52547/jcb.13.39.152

Jabbari, M., Fakheri, B.A., Aghnoum, R., Darvishzadeh, R., Mahdi Nezhad, N., Ataei, R., Koochakpour, Z. and Razi, M. 2021. Association analysis of physiological traits in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) under water deficit conditions. *Food Science and Nutrition,* 9(3), pp.1761-1779. https://doi.org/10.1002/fsn3.2161

Jabbari, M., Fakheri, B.A, Aghnoum, R., Darvishzadeh, R., Mahdi Nezhad, N., Ataei, R., Koochakpour, Z. and Razi, M. 2022. Identification of DNA markers associated with phenological traits in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) under drought stress conditions. *Cereal Research Communications,* 50(2), pp.171-178. http://doi.org/10.1007/s42976-021-00181-x

Kalaipandian, S., Powell, J., Karunakaran, A., Stiller, J., Adkins, S., Kage, U., Kazan, K. and Fleury, D. 2023. Transcriptome analysis of heat shock factor C2a over-expressing wheat roots reveals ferroptosis-like cell death in heat stress recovery. *International Journal of Molecular Sciences,* 24(4), pp.3099. https://doi.org/10.3390/ijms24043099

Kazan, K. 2015. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends in Plant Science,* 20, pp.219-229. http://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.02.001

Kidokoro, S., Hayashi, K., Haraguchi, H., Ishikawa, T., Soma, F., Konoura, I., Toda, S., Mizoi, J., Suzuki, T., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2021. Post-translational regulation of multiple clock-related transcription factors triggers cold-inducible gene expression in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 118, e2021048118. https://doi.org/10.1073/pnas.2021048118

Kim, J. S., Sakamoto, Y., Takahashi, F., Shibata, M., Urano, K., Matsunaga, S., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2022. *Arabidopsis* TBP-ASSOCIATED FACTOR 12 ortholog NOBIRO6 controls root elongation with unfolded protein response cofactor activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 119, e2120219119. https://doi.org/10.1073/pnas.2120219119

Kuromori, T., Fujita, M., Takahashi, F., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2022. Inter-tissue and Inter-organ signaling in drought stress responses and phenotyping of drought tolerance. *Plant Journal,* 109, pp.342–358. https://doi.org/10.1111/tpj.15619

Lan, Z., Krosse, S., Achard, P., van Dam, N.M. and Bede, J.C. 2014. DELLA proteins modulate *Arabidopsis* defences induced in response to caterpillar herbivory. *Journal of Experimental Botany,* 65(2), pp.571-83. https://doi.org/10.1093/jxb/ert420

Li, D., Quan, C., Song, Z., Li, X., Yu, G., Li, C. and Muhammad, A. 2020. High-throughput plant phenotyping platform (HT3P) as a novel for estimating agronomic traits from the lab to the field. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology,* 8, pp.62375. http://doi.org/10.3389/fbioe.2020.623705

Ma, Y., Szostkiewicz, I., Korte, A., Moes, D., Yang, Y., Christmann, A. and Grill, E. 2009. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science,* 324, pp.1064–1068. https://doi.org/10.1126/science.1172408

Miura, K., Jin, J. B. and Hasegawa, P. M. 2007. Sumoylation, a post-translational regulatory process in plants.

Current Opinion in Plant Biology. 10, pp.495–502. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.07.002

Mohasseli, T., Dezhsetan, S. and Darvishzadeh, R. 2022b. Network-based transcriptome analysis in salt tolerant and salt sensitive maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences,* 24(1), pp.79-92. [In Persian]. dor: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.6.7

Mohasseli, T., Seyed Rahmani, R., Darvishzadeh, R., Dezhsetan, S. and Marchal, K. 2022a. Comparative transcriptome analysis of two maize genotypes with different tolerance to salt stress. *Cereal Research Communications,* 50(4), pp.797-810. https://doi.org/10.1007/s42976-022-00271-4

Moradbeygi, H., Jamei, R., Heidari, R. and Darvishzadeh, R. 2020. Fe_2O_3 nanoparticles induced biochemical responses and expression of genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway in Moldavian balm under salinity stress. *Physiologia Plantarum,* 169(4), pp.555-570. https://doi.org/10.1111/ppl.13077

Morsali Aghajari, F., Darvishzadeh, R. and Razi, M. 2020. The effects of sodium chloride stress on some biochemical characteristics and antioxidative enzymes activities in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. *Journal of Plant Molecular Breeding,* 8(2), pp.10-20. https://doi.org/10.22058/jpmb.2022.533895.1237

Murthy, S. E., Dubin, A., Whitwam, T., Jojoa-Cruz, S., Cahalan, S., Mousavi, S. A. R., Ward, A. B. and Patapoutian, A. 2018. OSCA/TMEM63 are an evolutionarily conserved family of mechanically activated ion channels. *eLife,* 7, e41844. https://doi.org/10.7554/eLife.41844

Nakashima, K. and Suenaga, K. 2017. Toward the genetic improvement of drought tolerance in crops. *Japan Agricultural Research Quarterly (JARQ),* 51, pp.1–10. https://doi.org/10.6090/jarq.51.1

Qin, F., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2011. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. *Plant Cell Physiology*, 52(9): pp.1569-82. https://doi.org/10.1093/pcp/pcr106

Saeed, A. and Darvishzadeh, R. 2017. Association analysis of biotic and abiotic stresses resistance in chickpea (*Cicer spp.*) using AFLP markers. *Biotechnology and Biotechnological Equipment,* 31(4), pp.698-708. https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1333455

Selvaraj, M.G., Ishizaki, T., Valencia, M., Ogawa, S., Dedicova, B., Ogata, T., Yoshiwara, K., Maruyama, K., Maruyama, M., Saito, K., Takahashi, F., Shinozaki, K., Nakashima, K. and Ishitani, M. 2017. Overexpression of an *Arabidopsis thaliana* galactinol synthase gene improves drought tolerance in transgenic rice and increased grain yield in the field. *Plant Biotechnology Journal,* 15, pp.1465–1477. https://doi.org/10.1111/pbi.12731

Shahabzadeh, Z., Darvishzadeh, R. Mohammadi, R. and Jafari, M. 2020. Isolation and expression analysis of *NMPK* gene from tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) under salt stress. *Plant Molecular Biology Reporter,* 38, pp.175-186. https://doi.org/10.1007/s11105-019-01183-0

Sharifi Alishah, M., Darvishzadeh, R., Ahmadabadi, M. Hasanpur, K. and Imani, M. 2022b. Cloning and bioinformatics analysis of the gene encoding transcription factor MYB44 of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under salt stress conditions. *Genetic Engineering and Biosafety Journal,* 11(1), pp.1-12. [In Persian]. dor: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8

Sharifi Alishah, M., Darvishzadeh, R., Ahmadabadi, M., Piri Kashtiban, Y. and Hasanpur, K. 2022a. Identification of differentially expressed genes in salt-tolerant oilseed sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotype by RNA sequencing. *Molecular Biology Reports,* 49(5), pp.3583-3596. https://doi.org/10.1007/s11033-022-07198-3

Shimizu, T., Kanno, Y., Suzuki, H., Watanabe, S. and Seo, M. 2021. *Arabidopsis* NPF4.6 and NPF5.1 control leaf stomatal aperture by regulating abscisic acid transport. *Genes,* 12, pp.885. https://doi.org10.3390/genes12060885

Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2022. Functional genomics in plant abiotic stress responses and tolerance: from gene discovery to complex regulatory networks and their application in breeding. *Proceedings of the Japan Academy, Series B. Physical and Biological Sciences,* 98(8), pp.470-492. https://doi.org/10.2183/pjab.98.024

Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Seki, M. 2003. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Current Opinion in Plant Biology,* 6, pp.410–417. https://doi.org/10.1016/s1369-5266(03)00092-x

Soma, F., Takahashi, F., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2021. Cellular phosphorylation signaling and gene expression in drought-stress responses: ABA-dependent and ABA-independent regulatory systems. *Plants,* 10, pp.756. https://doi.org/10.3390/plants10040756

Suzuki, N., Sejima, H., Tam, R., Schlauch, K. and Mittler, R. 2011. Identification of the MBF1 heat-response regulon of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal,* 66, 844–851. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04550.x

Takahashi, F., Kuromori, T., Urano, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2020a. Drought stress responses and resistance in plants: from cellular responses to long-distance intercellular communication. *Frontiers in Plant Science,* 11, pp.556972. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.556972

Takeda, S. and Matsuoka, M. 2008. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. *Nature Reviews Genetics,* 9, pp.444–457. https://doi.org/10.1038/nrg2342

Thomashow, M.F. and Torii, K. 2020. SCREAMing twist on the role of *ICE1* in freezing tolerance. *Plant Cell,* 32, pp.816–819. https://doi.org/10.1105/tpc.20.00124

Tran, L.P., Urao, T., Qin, F., Maruyama, K., Kakimoto, T., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 104, pp.20623–20628. https://doi.org/10.1073/pnas.0706547105

Uno, Y., Furihata, T., Abe, H., Yoshida, R. and Shinozaki, K. 2000. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 97, pp.11632–11637. https://doi.org/10.1073/pnas.190309197

Urano, K., Maruyama, K., Koyama, T., Gonzalez, N., Inze, D., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2022. CIN-like TCP13 is essential for plant growth regulation under dehydration stress. *Plant Molecular Biology,* 108, pp.257–275. https://doi.org/10.1007/s11103-021-01238-5

Urano, K., Maruyama, K., Ogata, Y., Morishita, Y., Takeda, M., Sakurai, N., Suzuki, H., Saito, K., Shibata, D., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2009. Characterization of the ABA-regulated global responses to dehydration in *Arabidopsis* by metabolomics. *Plant Journal,* 57, pp.1065–1078. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03748.x

Wohlbach, D. J., Quirino, B. F. and Susman, M. R. 2008. Analysis of the *Arabidopsis* histidine kinase ATHK1 reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation. *Plant Journal.* 20, pp.1101–1117. https://doi.org/10.1105/tpc.107.055871

Wu, F., Chi, Y., Jiang, Z., Xu, Y., Xie, L., Huang, F., Wan, D., Wan, J., Yuan, F., Wu, X., Zhang, Y., Wang, L., Ye, R., Byeon, B., Wang, W., Zhang, S., Sima, M., Chen, S., Zhu, M., Pei, J., Johnson, D.M. Zhu, S., Cao, X., Pei, C., Zai, Z., Liu, Y., Liu, T., Swift, G.B., Zhang, W., Yu, M., Hu, Z., Siedow, J.N., Chen, X. and Pei, Z.M. 2020. Hydrogen peroxide sensor HPCA1 is an LRR receptor kinase in *Arabidopsis*. *Nature,* 578, pp.577–581. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2032-3

Yoshida, T., Fernie, A. R., Shinozaki, K. and Takahashi, F. 2021. Long-distance stress and developmental signals associated with abscisic acid signaling in environmental responses. *Plant Journal,* 105, pp.477–488. https://doi.org/10.1111/tpj.15101

Zhu, S. Y., Yu, X. C., Wang, X. J., Zhao, R., Li, Y., Fan, R. C., Shang, Y., Du, S. Y., Wang, X. F., Wu, F. Q., Xu, Y. H., Zhang, X. Y. and Zhang, D. P. 2007. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell,* 19(10), pp.3019-3036. https://doi.org/10.1105/tpc.107.050666